



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO COMPARATIVO DA ANÁLISE CITOLÓGICA E HISTOPATOLÓGICA DE MASSAS
CUTÂNEAS E SUBCUTÂNEAS EM CÃES E GATOS

RAFAEL ANTUNES GOMES

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria da Conceição da Cunha e
Vasconcelos Peleteiro
Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier Félix
Lourenço
Dr. Nuno Miguel da Costa Leal

ORIENTADOR

Dr. Nuno Miguel da Costa Leal

CO-ORIENTADOR

Doutor José Paulo Pacheco Sales Luís

2015

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO COMPARATIVO DA ANÁLISE CITOLÓGICA E HISTOPATOLÓGICA DE MASSAS
CUTÂNEAS E SUBCUTÂNEAS EM CÃES E GATOS

RAFAEL ANTUNES GOMES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria da Conceição da Cunha e
Vasconcelos Peleteiro
Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier Félix
Lourenço
Dr. Nuno Miguel da Costa Leal

ORIENTADOR

Dr. Nuno Miguel da Costa Leal

CO-ORIENTADOR

Doutor José Paulo Pacheco Sales Luís

2015

LISBOA

À minha Avó Odete, por tudo

Agradecimentos

Agradeço, em primeiro lugar, ao Dr. Nuno Leal, pela ajuda aquando da decisão do tema desta dissertação de mestrado, pelo apoio constante durante todo o processo de escrita, pelos conselhos e ensinamentos e pela infinita paciência que demonstrou para comigo durante todos os momentos.

Ao Professor José Sales Luís por ter aceite ser o meu co-orientador e por ser uma influência incrivelmente positiva para qualquer estudante de Medicina Veterinária.

À Professora Isabel Neto pela indispensável ajuda na realização do estudo presente nesta dissertação de mestrado.

À Professora Conceição Peleteiro por toda a disponibilidade, compreensão e ajuda durante a escrita da dissertação de mestrado.

Às enfermeiras Letícia Martins e Diana Almeida pela ajuda prestada em todos os momentos e por me mostrarem que com prática, nada é impossível.

Aos médicos veterinários Dr. Pedro Requicha, Dra. Rita Sousa, Dra. Carlota Guerreiro e Dra. Andreia Rodrigues, pela exigência, ensinamentos, simpatia e companheirismo incrível que tiveram para comigo durante toda a duração do estágio.

À Cláudia, por ter sempre um sorriso, um ombro amigo, a capacidade de me acalmar e de me fazer acreditar que sou capaz de tudo. Por ser um porto seguro e por me equilibrar em tantas e diversas situações.

Ao Pedro Silveira, Nuno Milharadas e Pedro Alves, pelo companheirismo e amizade imprescindíveis, todas as noites de estudo intensivo e todas as peripécias.

À Ana Viana, por todas as vezes que me ouviu, acalmou e me fez acreditar que tudo iria correr bem.

Ao Gonçalo Mergulhão, Fábio Santos, João Lourenço, Luís Correia e Inês Mendes pela omnipresença, por me apoiarem em todas as situações e pela preocupação constante que demonstram.

A todos os outros que me ajudaram durante esta jornada, em especial à Antónia e ao Luís por me receberem em Lisboa e me apresentarem à capital. Ao Zé, Lena e Tiago, por serem das melhores pessoas que tive o prazer de conhecer, por me receberem de braços abertos e por me fazerem sempre sentir em casa.

A toda a minha família, pela preocupação e por todo o carinho.

Aos meus pais, Manuela e António, por tornarem toda esta jornada possível, pela preocupação constante e por nunca deixarem de acreditar no meu trabalho e nas minhas capacidades.

Ao meu Irmão Armando, pelo companheirismo e todo o interesse no meu trabalho.

Às minhas primas Catarina e Daniela por serem uma companhia imprescindível.

Aos meus avós pelo orgulho que demonstravam e por toda a fé que tinham em mim.

Resumo

Estudo Comparativo da Análise Citológica e Histopatológica de Massas Cutâneas e Subcutâneas em Cães e Gatos

A análise citológica consiste num exame complementar que pode ser fonte de informação diagnóstica relevante para qualquer clínico de pequenos animais. De baixo custo e de relativa facilidade de execução, a análise citológica pode facilmente ser integrada nos exames de diagnóstico proporcionados por qualquer centro veterinário. A avaliação microscópica das amostras citológicas pode ser feita diretamente pelo clínico, sendo requerida alguma dedicação e prática, ou serem enviadas para laboratórios externos onde são avaliadas por profissionais experientes. Por outro lado, a análise histopatológica é considerada análise de eleição para o diagnóstico de massas tumorais, incluindo as cutâneas e subcutâneas. Embora a análise histopatológica consiga na grande maioria dos casos identificar claramente a origem celular da neoplasia, fornecendo informações indispensáveis para o correto seguimento clínico, tratamento e prognóstico, trata-se de um exame que necessita de uma colheita de material realizada de forma mais invasiva e de um maior processamento da amostra. No caso da citologia a colheita e a visualização da lâmina são muito rápidos. O objetivo deste estudo retrospectivo foi então compreender a correlação entre as análises citológica e histopatológica, comparando os diversos diagnósticos alcançados através das duas análises. A amostra consiste num total de 65 lesões, provenientes de 41 (89,4%) cães e 5 (10,6%) gatos, recolhidas entre 2009 e 2013. Destas 65 lesões apenas 60 (92,3%) foram incluídas no estudo, já que 5 (7,7%) foram consideradas inconclusivas e sem valor de diagnóstico. Todas as amostras depois de colhidas por punção aspirativa por agulha fina, foram depois avaliadas no Hospital Veterinário do Oeste. Já as análises histopatológicas foram enviadas para os laboratórios INNO® e Segalab® após exérese cirúrgica das massas. Os resultados foram depois analisados, concluindo que as neoplasias mais diagnosticadas foram as de células redondas, com destaque para os mastocitomas, neoplasia mais comumente diagnosticada, representado cerca de 33,3% do total de lesões analisadas. A neoplasia benigna mais comumente diagnosticada foi o adenoma das glândulas perianais com 25,0% do total de de neoplasias. Na verificação dos diagnósticos obtidos, a concordância entre as duas análises ficou provada em 84,6% dos casos.

Palavras-chave: Cães, gatos, citologia, histopatologia, punção por agulha fina, PAAF tumores cutâneos, tumores subcutâneos

Abstract

Comparative Study of the Cytologic and Hystopatologic Analyses of Cutaneous and Subcutaneuos Masses from Cats and Dogs

The cytologic analysis is a diagnostic procedure that can be a valuable source of information for Veterinarians. This analysis can easily be done in every veterinary center due to its low cost and moderate difficulty. With some dedication and technique the cytologic specimens can be microscopically evaluated by the veterinarian or sent to an external laboratory to be evaluated by experienced professionals. Despite its numerous advantages (easiness of sample collection, rapidity of results and low cost), to achieve a definitive diagnosis, the cytologic analysis is not the most reliable of the complementary exams. Thus, for cutaneous and subcutaneous masses, the histopathology is considered the golden method to achieve a definitive diagnosis. Although the histopathologic exam can, in most of the cases, identify the cellular origin of the mass and provide crucial information for a correct clinical follow-up, treatment and prognostic, the sample collection is more aggressive and requires a longer processing time. As far as the cytologic examination is concerned, the collection and evaluation of samples is almost immediate. This retrospective study aimed to evaluate the correlation between cytologic and histopathologic analysis. The study was based in 65 lesions (41 from dogs (89,4%) and 5 from cats (10,6%)) collected between 2009 and 2013. However, only 60 lesions (92,3%) were taken in consideration as the remaining 5 (7,7%) were unsatisfactory and therefore excluded from the study. After proceeding with the fine-needle aspiration biopsy the samples were sent to and processed in the laboratory of the Hospital Veterinario do Oeste. After surgical excision, the histopathologic samples were sent to external laboratories: INNO® and Segalab®. The round cell tumors were the most diagnosed ones with 36,4%, where mastocitomas represented 33,3% of all lesions. The perianal gland tumor was the most benign neoplasia diagnosed, representing 25% of all lesions. The correlation of both analyses was proven in 84,6% of the cases studied.

Key words: Dogs, cats, cytology, histopathology, fine needle aspiration biopsy, FNAB, cutaneous tumors, subcutaneous tumors.

Índice

I. Relatório de Atividades de Estágio	1
Hospital e Equipa	1
Medicina Interna.....	1
Internamento	2
Imagiologia.....	2
Cirurgia	2
Laboratório	3
II. Revisão Bibliográfica	4
1. Introdução	4
2. Nota Histórica.....	4
3. Análise Citológica	4
4. Métodos de Colheita de Material	5
4.1 Punção por Agulha Fina.....	5
4.1.1. Punção Aspirativa por Agulha Fina.....	6
4.1.2. Punção Não Aspirativa	8
4.2. Aposição	8
4.3. Raspagem	9
4.4. Zaragatoas.....	9
5. Fixação e Coloração de Esfregaços	9
6. Princípios Gerais de Observação Citológica.....	10
7. Padrões Arquitetónicos em Citologia.....	12
7.1. Pavimentoso	12
7.2. Favo de Mel	13
7.3. Acinar	13
7.4. Paliçada.....	14
7.5. Papilar	14
7.6. Trabecular.....	14
7.7. Multi Direcionado	14
7.8. Perivascular	14
8. Estruturas Celulares	15
9. Critérios de Malignidade	15
9.1. Critérios Gerais de Malignidade	16
9.2. Critérios Nucleares de Malignidade.....	18
10. Lesões Cutâneas e Subcutâneas - Interpretação Citológica.....	19
10.1. Lesões Não Neoplásicas	20
10.1.1. Tecido Normal ou Hiperplásico.....	20
10.1.2. Deformações Nodulares Não Neoplásicas	20

10.1.2.1. Quistos Cutâneos.....	20
10.1.2.2. Lesões Nodulares Não Quísticas e Não Neoplásicas	21
10.1.3. Lesões Inflamatórias	22
10.1.3.1 Inflamação Neutrófila	22
10.1.3.2. Inflamação Granulomatosa e Piogranulomatosa	23
10.1.3.3. Inflamação Linfoplasmocitária	23
10.1.3.4. Inflamação Mista	23
10.2. Lesões Neoplásicas	24
10.2.1 Eiteliais	24
10.2.1.1. Tumores dos Folículos Pilosos.....	25
10.2.1.2. Papiloma.....	25
10.2.1.3. Tricoblastoma	25
10.2.1.4 Carcinoma das Células Escamosas.....	26
10.2.1.5 Adenoma sebáceo e Epitelioma Sebáceo.....	26
10.2.1.6. Tumor das Glândulas Perianais ou das Células Hepatóides.....	27
10.2.1.7 Tumor das Glândulas dos Sacos Anais.....	27
10.2.2 Mesenquimatosos	28
10.2.2.1. Lipoma	29
10.2.2.2. Lipossarcoma.....	30
10.2.2.3. Tumores Mesenquimatosos dos Tecidos Moles.....	30
10.2.2.4. Sarcoma Anaplasico de Células Gigantes	30
10.2.2.5. Hemangiossarcoma	31
10.2.3 Tumores Melanocíticos.....	31
10.2.4. Células Redondas	32
10.2.4.1 Linfoma Cutâneo.....	33
10.2.4.2. Mastocitoma.....	33
10.2.4.3. Histiocitoma	35
10.2.4.4. Sarcoma Histiocítico	35
10.2.4.5. Plasmocitomas	36
10.2.4.6 Tumor Venéreo Transmissível	36
11. Histopatologia.....	37
12. Citologia na Clínica Médica	37
13. Fiabilidade da citologia	38
III. Estudo comparativo da análise citológica e histopatológica de nódulos cutâneos e subcutâneos em cães e gatos.	39
1. Introdução	39
2. Material e Métodos.....	39
3. Resultados	42
4. Discussão.....	48
5. Conclusão	52
Bibliografia	54

Índice de Figuras

Figura 1 - Zona dedicada ao processamento de análises citológicas (original)	3
Figura 2 - Análises citológicas que aguardam avaliação (original)	3
Figura 3 - Microscópio HVO (original)	3
Figura 4 - Laboratório HVO	3
Figura 5 - Técnica de esmagamento (original)	7
Figura 6 - Esquema de orientação a aplicar no diagnóstico citológico (adaptado de Peleteiro, 2011)	11
Figura 7 - Diferentes tipos de padrões arquitetônicos celulares (adaptado de Masserdotti, 2006)	13
Figura 8 - Quisto folicular (1) (original)	21
Figura 9 - Quisto folicular (2) (original)	21
Figura 10 - Lesão inflamatória. Presença de neutrófilos e bactérias (original)	24
Figura 11 - Tumor das glândulas perianais ou das células hepatóides (original)	27
Figura 12 - Lipoma (original)	29
Figura 13 - Tumor de células mesenquimatosas (1) (original)	29
Figura 14 - Tumor de células mesenquimatosas (2) (original)	29
Figura 15 - Tumor de células mesenquimatosas (3) (original)	29
Figura 16 - Imagem genérica de um tumor de células redondas (original)	33
Figura 17 - Mastocitoma (1) (original)	34
Figura 18 - Mastocitoma (2) (original)	34
Figura 19 - Mastocitoma indiferenciado (original)	34
Figura 20 - Histiocitoma (original)	35
Figura 21 - Histiocitoma associado a reação neutrofílica, com presença de bactérias (original) ...	35
Figura 22 - Tumor venéreo transmissível (original)	37
Figura 23 - Pormenor tumor venéreo transmissível (original)	37

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Critérios gerais e nucleares de malignidade (adaptado de Cowell and Tyler's Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat)	17
Tabela 2 - Resultados da análise citológica	43
Tabela 3 - Resultados da análise histopatológica	44
Tabela 4 - Erros de classificação citológica de neoplasias	46
Tabela 5 - Tabela de correlação de resultados entre citologia e histopatologia por tipo de célula	48

Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Raças dos animais em estudo	42
Gráfico 2 - Diagnóstico citológico por tipo de células em todos os animais	45
Gráfico 3 - Diagnóstico histopatológico por tipo de células em todos os animais	45
Gráfico 4 - Lesões benignas, malignas e não neoplásicas em todos os animais	46
Gráfico 5 - Diagnóstico citológico por tipo de célula em cães	47
Gráfico 6 - Diagnóstico histopatológico por tipo de célula em cães	47
Gráfico 7 - Lesões benignas, malignas e não neoplásicas em cães	47

Índice de Abreviaturas

HVO Hospital Veterinário do Oeste

PAAF Punção Aspirativa por Agulha Fina

FNAB Fine Needle Aspiration Biopsy

N:C Rácio Núcleo-Citoplasma

DVCR Danish Veterinary Cancer Registry

I. Relatório de Atividades de Estágio

Hospital e Equipa

O estágio curricular foi realizado no Hospital Veterinário do Oeste (HVO), sob a supervisão de toda a equipa médica, tendo início no dia 6 de Julho de 2013 e término no dia 6 de Janeiro de 2014. Durante este período de tempo foram desenvolvidos conhecimentos em áreas como medicina interna, cirurgia, internamento, imagiologia e laboratório. No total foram realizadas 1830 horas de estágio. A carga horária constava de 77 horas semanais, divididas pelas várias áreas acima descritas. Incluídos nos objetivos de estágio, foram realizadas reuniões científicas mensais, sendo da responsabilidade do estagiário escolher um tema e apresentá-lo a toda a equipa médica. O Hospital Veterinário do Oeste fica localizado em Vale de Adares, concelho da Lourinhã e distrito de Lisboa. Tal como o nome indica, o HVO presta serviços médico-veterinários 24 horas por dia durante todo o ano. É constituído por uma sala de espera comum, dois consultórios, uma sala de raio-x, uma sala de tratamentos com uma zona destinada a pequenos procedimentos cirúrgicos, um bloco operatório totalmente equipado, um laboratório e salas de internamento para gatos, cães e animais exóticos completamente separados entre si, realçando ainda a existência de uma ala independente, destinada a animais com doenças infetocontagiosas. Anexo ao hospital existe ainda o centro de formações do HVO, com sala para apresentação de conteúdos teóricos e uma sala contigua destinada a workshops práticos incluídos nas formações acima mencionadas. A equipa médica é constituída pelo diretor clínico Dr. Pedro Requicha, pelos médicos Dr. Nuno Leal, Dra. Carlota Guerreiro, Dra. Rita Sousa e Dra. Andreia Rodrigues e pelas enfermeiras Letícia Martins e Diana Almeida.

Medicina Interna

Na área de medicina interna era dada assistência aos médicos veterinários de serviço, adquirindo experiência na avaliação dos pacientes, no raciocínio clínico e no contato e relação com os donos e pacientes. Nas consultas era comum a avaliação clínica metódica do animal assim como a construção de uma história pregressa concisa mas completa. No âmbito das consultas de medicina interna foram praticadas várias técnicas como a contenção, corte de unhas, administração de vacinas, administração de medicação por via oral, administração de injetáveis por via subcutânea e intramuscular, colheita de sangue, cateterização endovenosa e colocação a fluídos, raspagens profundas para pesquisa de ectoparasitas, algaliação, colheita de amostras para posterior análise citológica, limpeza de ouvidos, limpeza de feridas e realização de pensos. As consultas mais frequentes foram as de rotina – vacinação e desparasitação – assim como as consultas de início de vida dos animais. Em termos de especialidades, foram comuns as consultas nas áreas de dermatologia, gastroenterologia e ortopedia. Foram também presenciadas consultas

de oncologia, cardiologia e oftalmologia. Durante o estágio foram consideráveis as urgências presenciadas. Compareceram às consultas de urgência casos de animais intoxicados, politraumatizados, com torções gástricas, hérnias diafragmáticas e animais com suspeita de ingestão de corpos estranhos. Nesta área foram desenvolvidas técnicas de triagem dos animais, entubação endotraqueal, cateterização de vias endovenosas e manobras de reanimação.

Internamento

As atividades de internamento consistiam no cumprimento do plano diário de cada animal, sendo realizado todos os dias o tratamento, monitorização, alimentação, higienização das boxes e passeio dos animais. Outras atividades comumente realizadas consistiam na troca cateteres e realização de exames laboratoriais e imagiológicos quando assim era necessário. A monitorização dos animais era feita através da avaliação de parâmetros como frequência cardíaca e respiratória, cor das membranas mucosas, tempo de repleção capilar, o pulso e a temperatura. Se durante as atividades de monitorização fosse detetada alguma alteração, o veterinário de serviço era automaticamente notificado pelo estagiário. A maioria do trabalho no internamento era realizado de manhã – início às 9 horas - e ao fim do dia – 21h – tentando criar rotinas de modo a diminuir o stress colocado sobre os animais durante a sua estadia no hospital.

Imagiologia

Esta área dividia-se essencialmente em duas áreas, radiologia e ecografia. Em radiologia o auxílio prestado pelo estagiário era essencialmente aquando da contenção e posicionamento dos animais, salvo exceções onde era necessário sedação ou anestesia, sendo nestes casos, a monitorização uma das tarefas a levar a cabo por parte do estagiário. No caso da ecografia a contenção de animais, realização de exames ecográficos e cistocentese ecoguiada foram atividades realizadas durante o estágio, sendo as ultimas duas realizadas sempre sobre supervisão do médico veterinário de serviço. Outras técnicas foram também presenciadas, tais como ecocardiografia, colheita de material através de punção por agulha fina, toracocentese e abdominocentese.

Cirurgia

Na cirurgia as atividades realizadas decorriam desde a receção do animal até à sua alta. Em todas as cirurgias era prestada ajuda na cateterização endovenosa, pré-medicação, indução da anestesia, tricotomia, lavagem e desinfeção do campo cirúrgico, entubação endotraqueal e monitorização durante o recobro. O papel do estagiário, durante a maioria das cirurgias era o de ajudante de cirurgião. Em cirurgias de tecidos moles foi prestado o auxilio na preparação da mesa de instrumentos, exposição e limpeza do campo cirúrgico e quando possível na sutura de tecidos.

Foi prestado auxílio em cirurgias eletivas como castrações, ovariectomias e vulvoplastias entre outras cirurgias de tecidos moles como correção de hérnia perineal, correção de hérnia diafragmática, esplenectomia, cistotomia, enterotomia, enterectomia, gastrotomia e gastropexia. Em cirurgia ortopédica foi prestado auxílio em osteossínteses internas com placas dinâmicas e placas bloqueadas e osteossínteses com fixadores externos. Foram ainda realizados procedimentos mais simples como a remoção de corpos estranhos alojados na terceira pálpebra, ouvidos e cavidade nasal, destarizações e sutura de pequenas lacerações.

Laboratório

No laboratório do HVO (figuras 1 a 4) um dos objetivos propostos aos estagiários é a familiarização com todo o material, procedimentos e exames laboratoriais complementares que podem ser levados a cabo. Entre as atividades levadas a cabo contam-se os hemogramas, microhematócritos, bioquímicas sanguíneas, citologia com respetivas colorações, avaliação microscópica de raspagens profundas, teste de sensibilidade a antibióticos, cultura de fungos, urianálise tipo I e II, testes de coagulação, pesquisa de parasitas através do método de flutuação e teste de Baermann.

Figura 1 - Zona dedicada ao processamento de análises citológicas



Figura 2 - Análises citológicas que aguardam avaliação (original)



Figura 3 - Microscópio HVO (original)



Figura 4 - Laboratório HVO



II. Revisão Bibliográfica

1. Introdução

A análise citológica é um meio de diagnóstico com grande potencial devido ao baixo custo e à vasta informação que pode fornecer. Embora seja necessária experiência, trata-se de um exame que pode ser facilmente incluído nos serviços prestados por qualquer centro veterinário. Deve ser referido que a análise de eleição para o diagnóstico de qualquer massa é a análise histopatológica, não devendo a análise citológica ser vista como um substituto mas sim como um complemento. Este estudo retrospectivo irá assim avaliar a correlação entre os diagnósticos fornecidos pelas análises citológica e histopatológica em massas cutâneas e subcutâneas.

2. Nota Histórica

A citologia aspirativa, tal como muitas outras técnicas, foi inicialmente desenvolvida no âmbito da Medicina Humana. Embora não seja uma técnica recente e não existindo consenso da data de início da utilização desta técnica, Ménard, Fontaine e Morin (1986) indicam no seu estudo que os pioneiros a utilizar esta técnica foram Martin e Ellis no ano de 1930, no Memorial Hospital for Cancer and Allied Diseases. Neste estudo foi utilizada a citologia aspirativa em 65 humanos com tumores malignos. Três anos depois, no hospital anteriormente referido, é publicado o primeiro estudo em larga escala realizado por Martin, Ellis e Stewart, constituído por cerca de 2500 aspirados (Kocjan, 2006). É apenas em 1980 que a punção aspirativa por agulha fina (PAAF) se torna um meio de diagnóstico utilizado em larga escala. A consagração da técnica não foi imediata devido à falta de confiança por parte dos técnicos, assim como, a falta de sensibilidade e de especificidade do procedimento e o receio de implantação de células tumorais durante o trajeto da agulha (Kocjan, 2006).

Em Medicina Veterinária, Raskin (2013) descreve Victor Perman, como o “avô” da citologia veterinária. Perman lecionou e escreveu sobre a arte e ciência desta disciplina em meados de 1960 acabando por publicar, em conjunto com Alsaker e Riis, o manual *Cytology of the Dog and Cat*, em 1979.

3. Análise Citológica

Em Medicina Veterinária, o principal objetivo de uma análise citológica é a observação da morfologia apresentada pelas células originárias de diferentes processos patológicos e a sua consequente classificação e, quando possível, diferenciação (Masserdotti, 2006).

A citologia é um meio de diagnóstico invasivo, embora muito pouco agressivo, que pode ser facilmente utilizado no universo da clínica de pequenos animais. O baixo grau de dificuldade da

técnica de colheita de material e de preparação das lâminas, associado aos riscos quase nulos para os pacientes, a celeridade na obtenção de resultados, não ser necessário na maioria dos casos, sedar ou anestesiá-lo o paciente e o baixo custo do material são fatores vantajosos e que devem ser levados em conta aquando da abordagem diária da clínica de animais de companhia (MacNeill, 2011). Porém, tal como em outros meios de diagnóstico, existem limitações. A perda da arquitetura tecidual é comum, tornando muitas vezes impossível a visualização da relação intercelular originária dos tecidos de onde a amostra foi retirada. Deve sempre ser levado em conta o contexto clínico do animal de onde são provenientes as amostras. É também importante reconhecer que os resultados são sempre dependentes quer da qualidade das amostras quer das capacidades do citologista que as avalia (Hajdu & Melamed, 1984). Quer para Hajdu e Melamed (1984) e Magalhães, Ramadinha, Barros e Peixoto (2001) uma das mais importantes limitações da citologia passa pela capacidade de diagnosticar um evento neoplásico sem, por vezes, o conseguir especificar e classificar.

A citologia não é considerada pela comunidade científica como uma alternativa à histologia e sim como um complemento, que pode conduzir a diagnósticos e decisões mais céleres.

4. Métodos de Colheita de Material

Para uma classificação assertiva de qualquer análise citológica é de extrema importância um bom manuseio da amostra (Meyer, Connolly & Heng, 2010). O sucesso da análise citológica depende de fatores não relacionados, tais como, realização de uma boa colheita de material, aplicação e extensão cuidada do material na lâmina, coloração adequada e um exame cuidadoso num microscópio de alta qualidade. Uma falha em qualquer uma das fases anteriormente referidas irá sempre ser prejudicial e levará à emissão de informação diagnóstica duvidosa (Meyer et al., 2010). As amostras citológicas podem ser colhidas através de zaragatoas, raspagem, impressão e por punção com agulha fina (Marcos e Santos, 2011). A escolha da técnica a utilizar varia consoante a localização anatómica e características do tecido a analisar, assim como, de fatores relacionados com o paciente. O objetivo final da colheita de material é a preparação de uma lâmina com uma amostra de células intactas, dispostas em monocamada (Meyer et al., 2010).

4.1 Punção por Agulha Fina

A Punção por Agulha Fina (PAF) é o método preferencial para a colheita de material para análise citológica (Tyler, Cowell, Baldwin & Morton, 1989). A utilização da PAF evita a contaminação superficial característica dos esfregaços por aposição e das raspagens e permite que sejam colhidas células de várias zonas da massa que se pretende analisar, de maneira a alcançar uma amostra o mais representativa possível (Tyler et al., 1989). É uma técnica que pode ser utilizada, por exemplo, para a obtenção de material em massas cutâneas e subcutâneas assim como de

órgãos internos como fígado ou rim. A PAF pode ser realizada de duas formas, a aspirativa, mais conhecida como Punção Aspirativa por Agulha Fina (PAAF) ou a não aspirativa (Tyler et al., 1989). Para a realização de uma PAF são necessários materiais pouco dispendiosos e acessíveis em qualquer centro veterinário. O material necessário sofre ligeiras variações de autor para autor, Tyler, Cowell, Baldwin e Morton (1989) defendem a utilização de agulhas entre 21-25 Gauge e seringas entre 3-20 ml, Bauer (2014) defende a utilização de agulhas entre os 20-22 Gauge e seringas de 5 ml, Simeonov (2012) utilizou no seu estudo agulhas de 21-22 Gauge não descrevendo as seringas que utilizou. Todos os autores anteriormente referenciados são concordantes que, em casos de massas de menor consistência a utilização de seringas de menor volume é suficiente enquanto que, em massas mais firmes deve ser utilizada uma seringa de maior volume de maneira a produzir uma maior força aspirativa. O local onde vai ser realizada a punção deverá ser preparado consoante o tecido a ser aspirado, ou seja, em casos onde a colheita não será feita dentro de uma cavidade corporal a tricotomia do pelo e desinfecção com álcool são suficientes (Marcos & Santos, 2011) enquanto que, em casos de colheita de material dentro de uma cavidade corporal, o local a puncionar deve sofrer uma preparação cirúrgica e a esterilidade deve ser mantido ao máximo (Meyer et al., 2010).

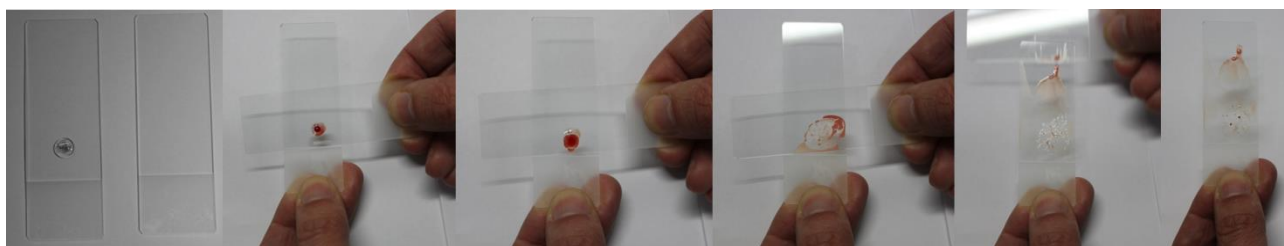
4.1.1. Punção Aspirativa por Agulha Fina

Para a realização de uma correta PAAF, a massa a ser aspirada deve ser segura firmemente de maneira a tornar mais fácil a introdução e o posicionamento da agulha. A agulha, com a respetiva seringa acoplada, deve ser introduzida no centro da massa e de seguida deve ser aplicada pressão negativa (Tyler et al., 1989). A aspiração não se deve cingir apenas a uma zona da massa. A agulha poderá ser redirigida mantendo constante a pressão negativa aplicada pela seringa, evitando sempre a contaminação do aspirado com células exteriores à massa que se punciona. No final da obtenção de material, a pressão negativa deve ser aliviada antes da remoção da agulha do interior dos tecidos (Tyler et al., 1989). Já Marcos e Santos (2011) refere que ao redirigir a agulha várias vezes dá-se traumatismo de tecidos com consequente hemorragia local, o que pode originar hemodiluição da amostra. Marcos e Santos (2011) indicam que é preferível efetuar várias aspirações, em vários locais da lesão.

Ao realizar uma PAAF podem ser utilizados punhos de aspiração. Estes punhos permitem que um só operador individualize a lesão com uma mão e aspire com a outra. Utilizando estes punhos de aspiração podem ser obtidas amostras de maior qualidade, principalmente em lesões menores que 1 cm (Marcos e Santos, 2011). Apesar de dispendiosos, trata-se de um equipamento que sofre pouco desgaste e que pode ser rentabilizado de forma segura. Estes punhos podem ser construídos para funcionarem apenas com um tipo de seringas, ou podem ter um encaixe para seringas universal.

Apesar de se tratar de uma excelente técnica, existe a possibilidade de alcançar maus resultados devido a diversas situações: a agulha pode passar tangencialmente há lesão, levando à colheita de células exteriores à mesma; em casos em que a zona central da lesão se encontra necrosada ou se trate de uma lesão quística, o material colhido não terá valor de diagnóstico; no caso de uma aspiração tangencial, e em casos onde existam tumores muito heterogêneos, pode ser colhido material de uma massa adjacente e assim originar um diagnóstico completamente diferente; por fim, e em casos onde a lesão tem uma grande quantidade de tecido fibroso, é normal existir pouca esfoliação e assim obter amostras de baixo valor diagnóstico (Marcos e Santos, 2011). Após a colheita de material é necessária a sua deposição numa lâmina de vidro. A agulha é desacoplada da seringa e esta é cheia de ar, a agulha é acoplada de novo e ao pressionar rapidamente o êmbolo o material deverá ser expulso da agulha para a lâmina previamente preparada. Ao realizar este último passo é necessário ter em conta que a ponta da agulha deverá estar próxima da lâmina e com o bisel para baixo de modo a que o material seja depositado como que uma gota única (Tyler et al., 1989). É essencial para a visualização e emissão de um diagnóstico correto que as lâminas que chegam ao laboratório sejam constituídas por amostras bastante celulares e com células dispostas em monocamada (Tyler et al., 1989). Para a obtenção de células em monocamada podem ser utilizadas técnicas como o esmagamento (figura 5) ou esfregaço sanguíneo (Tyler et al., 1989; Marcos e Santos, 2011). A experiência do operador e as características do aspirado são fatores a ter em conta aquando da escolha da técnica. A técnica por esmagamento, quando corretamente aplicada, pode resultar em preparações excelentes e com elevado valor de diagnóstico, porém, quando incorretamente aplicada, pode resultar em preparações com demasiadas células danificadas (Tyler et al., 1989). Geralmente esta técnica está indicada para amostras semissólidas ou mucosas (Marcos e Santos, 2011). A amostra deve ser colocada numa lâmina, sendo depois espalhada por uma segunda lâmina que desliza perpendicularmente à primeira (Marcos e Santos, 2011). Durante este deslize é importante não aumentar a pressão sobre a segunda lâmina, normalmente o peso da mesma é suficiente para espalhar corretamente as células (Tyler et al., 1989). Como variante desta técnica, para amostras mucosas/líquidas, devem ser colocadas duas lâminas sobrepostas, em paralelo, movendo-as em direções contrárias, obtendo assim duas preparações (Marcos e Santos, 2011).

Figura 5 - Técnica de esmagamento (original)



4.1.2. Punção Não Aspirativa

A punção não aspirativa é uma técnica semelhante à anteriormente descrita, sendo a ausência da aplicação de vácuo durante a colheita, o que as distingue. O material é obtido por capilaridade e pelo movimento cortante da agulha (Marcos e Santos, 2011). As amostras tendem a ser menos celulares, sendo a morfologia das células quase sempre bem preservada. A técnica torna-se mais valiosa quanto maior a vascularização dos tecidos a ser puncionados, como por exemplo em caso de punção do fígado ou baço. Esta técnica permite assim diminuir a hemodiluição das amostras, resultando em preparações citológicas com maior valor diagnóstico (Peleteiro, 2014, comunicação pessoal). A agulha pode ou não ter uma seringa acoplada, embora no caso de se encontrar uma seringa acoplada, o embolo deve ser previamente retraído de modo a que se possa depositar o material na lâmina de imediato após a colheita (Meinkoth, Cowell, Tyler & Morton, 2014). A agulha deve ser inserida na lesão, realizando depois movimentos de vaivém, tentando permanecer no mesmo trajeto, mas fazendo amostragem de várias zona da lesão (Marcos e Santos, 2011). A colocação do material aspirado nas lâminas e a preparação dos esfregaços é realizada da mesma forma que na punção aspirativa por agulha fina, anteriormente descrita.

4.2. Aposição

Citologias por aposição podem ser obtidas de lesões cutâneas externas ou que exsudem para a superfície e de tecidos removidos por cirurgia ou necrópsia (Marcos e Santos, 2011). As amostras adquiridas desta maneira exigem pouca contenção do animal mas as lâminas resultantes são menos celulares que lâminas por raspagem e contêm maior contaminação celular e bacteriana que lâminas obtidas por punção aspirativa (Tyler et al., 1989). No caso de lesões cutâneas externas, deverá ser feita uma impressão antes e outra após limpeza com uma solução isotónica, devendo a lâmina deve ser rodada gentilmente sobre a lesão para se dar uma maior adesão de células à mesma (Marcos e Santos, 2011). Para realizar citologias de tecidos removidos por cirurgia ou necropsia é preponderante remover o excesso de sangue e fluido da superfície dos tecidos com um material limpo e absorvente. O procedimento anteriormente descrito deve ser realizado pois o excesso de sangue e fluido impede as células de aderirem à lâmina e de assumirem o tamanho e forma que normalmente assumem, resultando em preparações de baixa qualidade (Tyler et al., 1989). Após a limpeza, a lâmina deve aderir ao tecido, sendo este processo repetido várias vezes ao longo de toda a lâmina (Marcos e Santos, 2011). Um das claras desvantagens desta técnica é o facto de apenas se colherem células superficiais, originando esfregaços que podem orientar o patologista para diagnósticos de infeções bacterianas ou displasia induzida por inflamação, mascarando assim possíveis neoplasias subjacentes (Tyler et al., 1989).

4.3. Raspagem

Citologias obtidas através de raspagem podem, tal como os esfregaços por aposição, ser preparados a partir de lesões cutâneas externas ou tecidos obtidos através de cirurgia ou necropsia. Uma das características da técnica de raspagem é o número de células que se obtêm, tendo esta técnica um maior número de células destacadas, sendo comum a sua utilização em massas firmes e pouco esfoliativas (Tyler et al., 1989). As desvantagens desta técnica são similares às da técnica por aposição, embora neste caso a morfologia celular seja menos preservada. Para realizar uma raspagem de forma correta, é necessário limpar a superfície da amostra e orientar o bordo rombo de uma lâmina de bisturi perpendicularmente à superfície, realizando várias raspagens sobre a amostra no sentido do operador, colocando o material colhido numa lâmina e, por fim, espalhando a amostra sobre esta com outra lâmina de vidro ou com a própria lâmina de bisturi (Bauer, 2014).

4.4. Zaragatoas

As zaragatoas são um método utilizado apenas em casos onde outros métodos de colheita não são práticos, como por exemplo, colheita de material vaginal, ouvido externo ou em tratos fistulosos (Meinkoth et al., 2014). Devem ser sempre utilizadas zaragatoas estéreis, que devem ser humedecidas em casos onde a lesão não é suficientemente húmida. O humedecimento deve ser feito com soro estéril e, tem como intuito, diminuir a rotura das células aquando da colheita. Para a preparação da lâmina, a zaragatoa deve ser rodada sobre a lâmina, diminuindo assim a proporção de células roturadas (Meinkoth e tal., 2014).

5. Fixação e Coloração de Esfregaços

Em Medicina Veterinária, os esfregaços são fixados por secagem ao ar. Através desta fixação as células aderem à lâmina e não se soltam durante a coloração. O modo mais simples para proceder à fixação dos esfregaços é simplesmente agitar a lâmina várias vezes ou, em alternativa, colocar as lâminas em frente de uma ventoinha. A secagem lenta está desaconselhada pois pode induzir artefactos, com especial importância para os artefactos de condensação nuclear que levam a perda de detalhe (Marcos e Santos, 2011). Em citologia utilizam-se maioritariamente três tipos de colorações, colorações tipo Romanowsky, colorações vitais e coloração Papanicolau. Em Medicina Veterinária as colorações mais utilizadas são as tipo Romanowsky seguidas das colorações vitais. Embora em Medicina Humana a utilização de colorações Papanicolau seja comum, o mesmo não acontece em medicina veterinária (Tyler et al., 1989; Meyer et al., 2010; Marcos e Santos, 2011). Tal não acontece devido ao facto de se tratar de uma coloração complexa, com reagentes difíceis de preparar e manter em laboratório (Tyler et al., 1989). As colorações tipo Romanowsky têm boa difusão no mercado, preço acessível e são fáceis de

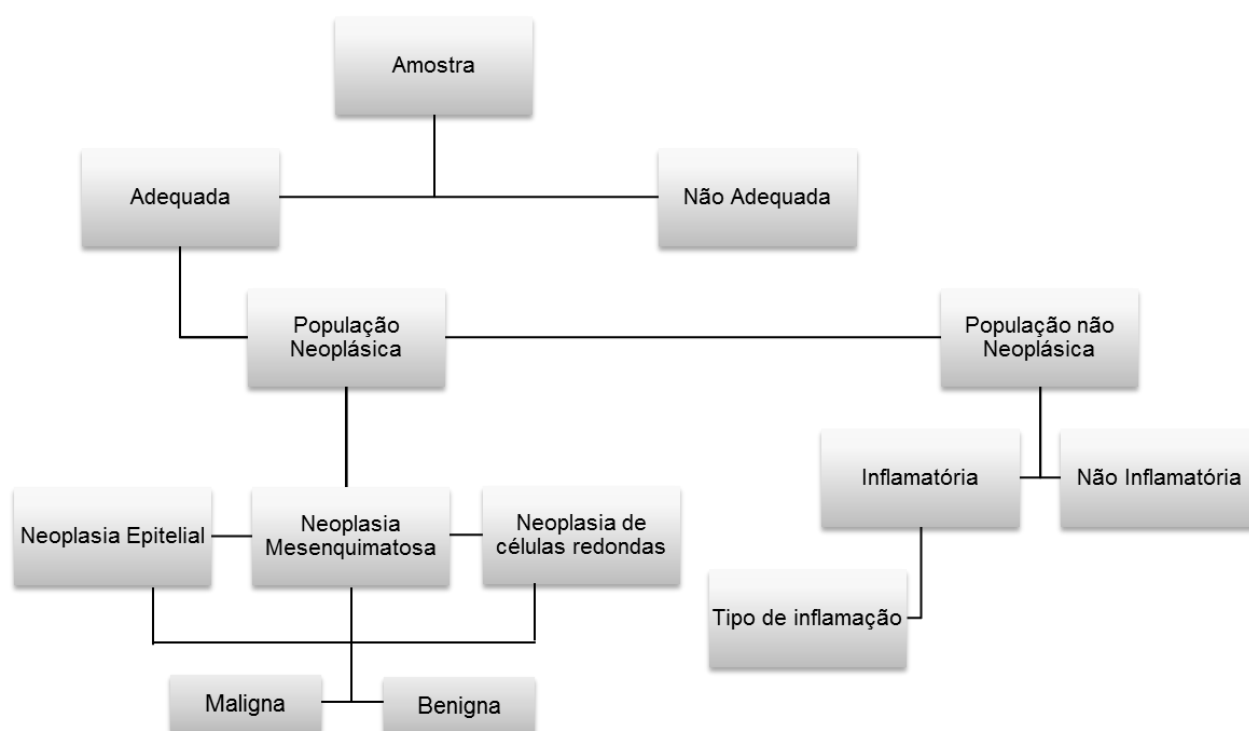
preparar, manter e utilizar (Tyler et al., 1989). Estas colorações combinam um fixador, normalmente metanol, e corantes básicos e ácidos numa solução aquosa. Como exemplos destas colorações temos a coloração Wright's, Leishman's, May-Grunwald-Giemsa e Diff-Quick® (Meyer et al., 2010). Tyler et al (1989) e Meyer et al., (2010) referem que a coloração de mastócitos não é fiável com Diff-Quick®, existindo a possibilidade de não se obter a reação metacromática característica destas células. Já Marcos e Santos (2011) referem que na grande maioria dos casos, ao utilizar esta coloração, não existem problemas na identificação de mastócitos. Todos os autores concordam que, em caso de dúvida na avaliação das lâminas, deve proceder-se a nova coloração com, por exemplo, May-Grunwald-Giemsa. É de extrema importância seguir o protocolo de coloração indicado pelo fabricante, podendo ser necessários pequenos ajustes individuais consoante as características da preparação, ou seja, quanto mais fino o esfregaço e quanto menor a concentração de proteína de um líquido, menor o tempo necessário até à obtenção de uma coloração correta, acontecendo o inverso para esfregaços mais espessos e para maiores concentrações de proteína. (Tyler et al., 1989). O novo azul de metileno é um corante básico que pode ser usado em amostras frescas ou secas ao ar, podendo ser utilizado como coadjuvante das colorações tipo Romanowsky (Tyler et al., 1989; Marcos e Santos, 2011). Este corante permite uma boa avaliação do núcleo, nucléolos e da própria cromatina, e também de microrganismos e dos grânulos dos mastócitos, tendo como principais desvantagens a reduzida coloração do citoplasma e a produção de colorações temporárias que necessitam de ser avaliadas de imediato (Marcos e Santos, 2011).

6. Princípios Gerais de Observação Citológica

Como foi descrito anteriormente, as análises citológicas são uma ferramenta muito útil no dia-a-dia da prática clínica, mas para a preparação de uma citologia com boa qualidade é necessário seguir várias técnicas e diretrizes. Em seguida, cabe ao patologista a interpretação da observação microscópica e a emissão de um diagnóstico (figura 6). É importante recordar que nem sempre é alcançável um diagnóstico definitivo mas a distinção entre, por exemplo, neoplasia ou inflamação é normalmente reconhecido após alguns minutos de observação (Tyler et al., 1989). É de extrema importância que o patologista esteja familiarizado com as colorações utilizadas, com a aparência normal das células e que mantenha sempre uma técnica de observação metódica de modo a proceder sempre da mesma maneira tendo em mente os passos a seguir. Uma correta avaliação de análises citológicas começa pela leitura dos dados presentes na requisição. Deve ser levado em conta a espécie do animal, o seu sexo, a sua raça e a sua idade, qual o material colhido, qual o método de colheita e o tipo de lesão e que outras células poderão ter contaminado a amostra (Peleteiro, 2011). De seguida, utilizando a objetiva de 4x deve ser feita uma observação global e avaliar se o material colhido é suficiente, se se encontra bem corado, se a amostra é muito ou pouco celular, se as células estão dispersas ou, pelo contrário, se existem aglomerados celulares

e, por fim, se a amostra se encontra hemo diluída (Peleteiro, 2011). Segundo Meinkoth, Cowell e Tyler (2014) é difícil determinar o número de células que devem estar presentes de forma bem preservada e bem corada, de modo a fazer uma correta avaliação citológica. Os autores defendem que, caso o patologista se questione se a amostra é suficientemente celular ou não, o mais certo é não o ser. Utilizando de seguida a objetiva 10x, é possível identificar alguns detalhes das células e a sua forma de organização. Com esta objetiva deve ser avaliado o estado de preservação das células, a uniformidade do padrão celular, a disposição celular de forma dispersa ou em placas, se existem vasos capilares, matriz visível ou invisível, pêlos, escamas de queratina, entre outros. Deve também ser feita a verificação da existência de formas parasitárias livres e,

Figura 6 - Esquema de orientação a aplicar no diagnóstico citológico (adaptado de Peleteiro, 2011)



havendo serosidade, se esta contém ou não, precipitados (Peleteiro, 2011). Finalmente, utilizando a objetiva de 40x, podem ser avaliados os detalhes citoplasmáticos e nucleares das células, tentando atribuir-lhes um significado enquanto parte integrante da lesão (Peleteiro, 2011). O objetivo desta análise será a conclusão se as células presentes são de origem inflamatória ou de origem neoplásica, com posterior classificação de modo a atingir conclusões com significado clínico. É importante referir ainda que é comum a existência simultânea de células de ambas as origens na mesma preparação sendo necessária cautela no momento de tomada de decisão e elaboração do relatório da análise.

7. Padrões Arquitetônicos em Citologia

Os padrões arquitetônicos (figura 7) celulares são uma característica normal dos tecidos, que se traduz pela interação das células entre si de modo a otimizar a sua função. Como exemplos desta interação intercelular podem ser referidas as organizações em túbulos ou ácinos, que otimizam a atividade celular e criam meios para o armazenamento e excreção das substâncias secretadas ou a ligação entre queratinócitos que permite a proteção contra agressões externas (Masserdotti, 2006). Os padrões arquitetônicos formados pelas células são um importante fator no que toca ao diagnóstico de cortes histológicos, podendo as amostras citológicas das mesmas lesões não refletirem os mesmos padrões quando é realizada uma punção por agulha fina (Masserdotti, 2006). Embora não seja comum, as amostras citológicas podem imitar estes padrões se for realizada uma colheita e preparação corretas (Masserdotti, 2006). Nestes padrões citológicos são consideradas células que, quando esfoliadas ou aspiradas, mantêm total ou parcialmente a organização estrutural do tecido de origem. Segundo Masserdotti (2006), a análise histológica de um tecido pode ser comparada à observação de uma árvore: tomando as estruturas vasculares por raízes, o estroma pelo tronco e ramos e as células como folhas, conseguindo assim reconhecer, descrever e identificar a árvore. Assim, durante a análise de uma preparação citológica, pretende-se identificar a mesma árvore, observando apenas as folhas, ou seja, apenas as células. Apesar da ausência de padrões estruturais ser considerada uma das desvantagens da citologia, esses padrões estão presentes em algumas preparações e quando obtidos e avaliados podem conduzir a diagnósticos e decisões clínicas mais corretas. Segundo Masserdotti (2006) as amostras mais celulares providenciam as melhores ocasiões para visualizar padrões arquitetônicos, dependendo dessa celularidade da amostra propriamente dita, do método de esfregaço e de fixação e das aptidões do operador. O padrão arquitetônico pode, segundo Masserdotti (2006), ser classificado como pavimentoso, em favo de mel, acinar, em paliçada, papilar, trabecular, em feixe multi direcionado e perivascular. Abaixo apresenta-se um esquema dos vários padrões arquitetônicos celulares.

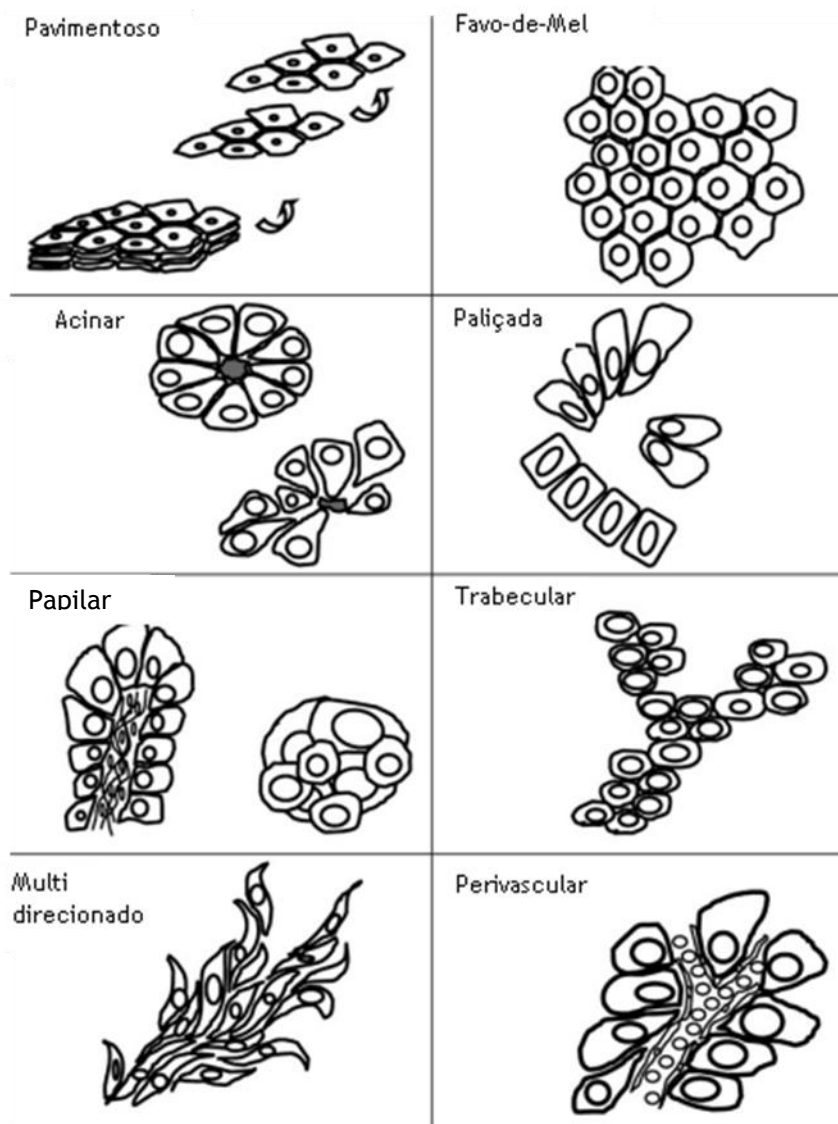
7.1. Pavimentoso

Neste padrão, as células estão dispostas como um mosaico e em monocamada. Estes agregados celulares são resultado da esfoliação de superfícies epiteliais, como pele, mucosa oral e vaginal ou o epitélio de transição da bexiga. Este arranjo pode representar um parâmetro de diagnóstico e identificação para células escamosas e carcinomas de células escamosas (Masserdotti, 2006).

7.2. Favo de Mel

Embora o padrão celular em favo de mel seja semelhante ao arranjo pavimentoso, neste caso as células são cubóides ou colunares. São arranjos típicos de parênquimas glandulares ou parênquimas com múltiplas camadas que esfoliam em agregados quando a colheita é feita através de punção com agulha fina. Este arranjo celular pode surgir em casos de hiperplasia benigna da próstata e em impressões, raspagens e biópsias de mucosa gástrica e intestinal (Masserdotti, 2006).

Figura 7 - Diferentes tipos de padrões arquitetônicos celulares (adaptado de Masserdotti, 2006)



7.3. Acinar

Os padrões acinares são característicos de tecidos glandulares (Masserdotti, 2006). Estes arranjos são compostos por agregados celulares em volta de uma zona central vazia ou repleta de

secreção. Estes agregados podem surgir nos esfregaços em formas incompletas ou parcialmente destruídas devido ao trauma resultante da colheita de material e podem surgir aquando da colheita de amostras de tiroide e neoplasias tiroideias, adenocarcinomas pulmonares, carcinoma das glândulas salivares, carcinoma das glândulas ceruminosas e em outros tecidos glandulares normais (Masserdotti, 2006).

7.4. Paliçada

As células características dos padrões em paliçada são frequentemente colunares, com núcleos orientados para o polo basal e dispõem-se em filas regulares. Como exemplos deste padrão celular o epitélio ciliar pseudoestratificado colunar das grandes vias respiratórias e o epitélio colunar intestinal Masserdotti (2006).

7.5. Papilar

O padrão celular papilar é composto por um eixo vascular ou estromal, envolto por uma ou várias camadas de células epiteliais, em que a camada mais exterior de células pode ter um arranjo em paliçada. É frequente o eixo descrito anteriormente não ser uma estrutura evidente e pode mesmo estar ausente, resultando assim no padrão papilar como um aglomerado de células onde o limite citoplasmático se torna muito ténue. Células com este arranjo esfoliam maioritariamente em proliferações benignas ou malignas de epitélios intratubulares tais como tumores mamários (Masserdotti, 2006).

7.6. Trabecular

Células com um padrão trabecular esfoliam normalmente em agregados, que podem ter uma estrutura idêntica a ramos. Este arranjo é comumente observado em tumores das glândulas perianais, em alguns tumores mamários e hepáticos (Masserdotti, 2006).

7.7. Multi Direcionado

O padrão multi direcionado está presente em tecidos mesenquimatosos, estando as células agrupadas de uma forma ondulatória, por vezes associadas a cordões de estroma. Este padrão é observado em algumas neoplasias malignas dos tecidos mesenquimatosos, tais como, fibrossarcomas e histiocitoma maligno (Masserdotti, 2006).

7.8. Perivascular

Nos padrões perivasculares, as células encontram-se organizadas em volta de uma ou mais estruturas vasculares, que podem ser identificadas através de células epiteliais alongadas que constituem os capilares, podendo, em alguns casos, existir eritrócitos dentro desses mesmos capilares. Este arranjo celular pode ser visível aquando da visualização de citologias de tumores de Leydig e hemangiopericitomas (Masserdotti, 2006).

8. Estruturas Celulares

A morfologia nuclear e citoplasmática são os principais elementos que auxiliam o patologista a identificar corretamente o tipo de células presentes. O citoplasma celular pode indicar a diferenciação celular, o tecido de origem, a intensidade de produção de proteína e, em alguns casos, a função da célula (Alleman & Bain, 2000). O núcleo é o centro da atividade e reprodução celular e é com base nesta estrutura que o diagnóstico de malignidade é maioritariamente feito (Alleman & Bain, 2000). O núcleo de todas as células contém cromatina, ou seja, uma associação entre ADN e proteínas estruturais. Algumas áreas da cromatina coram de um azul escuro, essas zonas são denominadas de heterocromatina. A heterocromatina representa a forma inativa do ADN, enquanto que, as áreas coradas de um tom mais claro são chamadas de eucromatina e representam a forma ativa do ADN que está a ser transcrita e consequentemente traduzida em proteínas (Alleman & Bain, 2000). O nucléolo é uma estrutura de forma arredondada rodeada por uma fina camada de heterocromatina. Células normais podem ter entre um a quatro nucléolos, no entanto, podem não ser visíveis na sua totalidade, ou não ser de todo visíveis. Células que estão a sintetizar ativamente proteína têm, normalmente, nucléolos mais proeminentes. Células envolvidas em processos neoplásicos podem ter atividade reprodutiva e metabólica aumentadas, assim, o núcleo pode evidenciar sinais desse aumento de atividade. Áreas de mistura de heterocromatina e eucromatina, nucléolos proeminentes e aumento da atividade mitótica são evidências de um aumento de atividade por parte do núcleo. (Alleman & Bain, 2000). Há que referir também que em certos casos, a quantidade de ADN pode mesmo estar aumentada, podendo algumas células ser diploides, tetraploides e até mesmo poliploides. Quanto mais ADN se encontra numa célula, mais corado surgirá o núcleo. Assim sendo, a hipercromasia, ou seja, o aumento da intensidade da coloração do núcleo, assim como, mitoses em maior número e com formas aberrantes são visíveis em amostras com potencial de malignidade (Alleman & Bain, 2000).

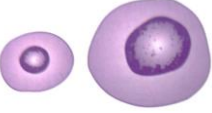
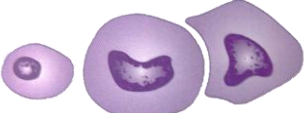
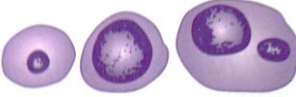
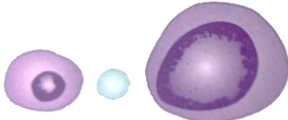






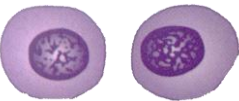
9. Critérios de Malignidade

O aparecimento de neoplasias é normalmente resultado de uma perda dos controlos de inibição do crescimento da população celular e falha dos sistemas de controlo de qualidade intracelulares (Tennant, 2014). No caso de a lesão remetida para análise se tratar de uma neoplasia maligna, os núcleos das células podem apresentar variadas alterações que podem indicar o crescimento desmesurado e irregular da população celular (Meinkoth, Cowell & Tyler, 2014). Os critérios citológicos que devem ser avaliados durante a tomada de decisão entre lesão maligna ou lesão benigna dividem-se em dois grupos: os critérios gerais de malignidade e os critérios nucleares de malignidade (Meinkoth et al., 2014). Os critérios de malignidade encontram-se sumarizados na tabela 1.

9.1. Critérios Gerais de Malignidade

Os critérios gerais de malignidade avaliam características como anisocitose e a macrocitose, ou seja, na variação do tamanho celular da população e na presença de células excepcionalmente grandes. A presença de células macrocíticas é mais comumente observada em tumores de origem epitelial (Meinkoth et al., 2014). Pode existir um certo grau de anisocitose em qualquer população celular, devendo sempre ser feita uma avaliação cuidadosa de modo a não sobre interpretar as citologias. A hiper celularidade é um critério que é também enquadrado nos critérios gerais de malignidade, devendo sempre ser avaliado sabendo de antemão o tecido de onde foram colhidas as células. Este conhecimento é sempre necessário pois em casos de lesões inflamatórias, tecidos linfoides ou outros tecidos compostos por uma população numerosa de células não é correto considerar a hiper celularidade como um critério de malignidade. Por outro lado, lâminas muito celulares, compostas por numerosas células mesenquimatosas idênticas, é um achado suspeito e que pode indicar a presença de um processo neoplásico. O pleomorfismo, ou seja, a variação na forma das células, é também um critério de malignidade que deve ser avaliado pelo patologista. A presença de pleomorfismo é também normal em alguns tipos de tecidos como por exemplo o epitélio de transição do trato urinário e em amostras que tenham células escamosas em diferentes graus de maturação (Meinkoth et al., 2014).

Tabela 1 - Critérios gerais e nucleares de malignidade (adaptado de Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the dog and cat 2014).

Critérios	Descrição	Representação esquemática
Critérios Gerais		
Anisocitose e Macrocitose	Variação no tamanho da população celular, com algumas células a atingir o dobro do tamanho normal	
Hipercelularidade	Aumento do tamanho da população celular	Não Representado
Pleomorfismo	Tamanho e formas variáveis em células do mesmo tipo	
Critérios Nucleares		
Anisocariose	Variação no tamanho dos núcleos de uma população celular	
Macrocariose	Núcleos excessivamente grandes	
Multinucleação	Múltiplos núcleos numa só célula	
Alteração do rácio Núcleo-Citoplasma (N:C)	Alterações nas áreas celulares ocupadas pelo núcleo e pelo citoplasma	
Macronucléolos	Nucléolos aumentados de tamanho	
Aumento do aparecimento de figuras mitóticas	A mitose é rara nos tecidos normais	
Mitoses anormais	Desalinhamento de Cromossomas	Normal  Anormal 
Cromatina grosseira	A Cromatina pode tomar um aspeto mais grosseiro que o normal	

9.2. Critérios Nucleares de Malignidade

Os critérios nucleares de malignidade são mais fidedignos no que toca a auxiliar a decisão do patologista na classificação de uma população celular, sendo menos influenciados por processos não neoplásicos, como por exemplo, displasia devida a processos inflamatórios (Meinkoth et al., 2014). Anisocariose e macrocariose são termos que indicam respetivamente a presença de variação no tamanho do núcleo e núcleos excessivamente grandes. Por vezes, em casos onde estejam presentes células epiteliais escamosas, a presença de anisocariose é normal, pois ao longo da maturação destas células o núcleo torna-se cada vez mais pequeno e picnótico. A multinucleação que, tal como o nome indica, é a presença de vários núcleos numa única célula, que pode ser observada em tumores malignos originários em qualquer tipo de célula. Este achado citológico resulta de uma divisão do núcleo que não é acompanhada por uma divisão do citoplasma da célula, sendo importante referir que em células multinucleadas, o número de nucléolos deve ser par e, caso sejam em número impar, são indicativos de divisão nuclear atípica e são um importante achado citológico (Meinkoth et al., 2014). Existem outras situações onde a multinucleação pode estar presente, tendo como exemplos as lesões inflamatórias, onde podem existir macrófagos multinucleados ou aspirados de tecido epitelial que está em processo regenerativo ou hiperplásico. No caso dos plasmocitomas cutâneos, um processo neoplásico benigno, podem também surgir células multinucleadas. As alterações no rácio núcleo-citoplasma (N:C), ou seja, as áreas relativas que são ocupadas pelo citoplasma e pelo núcleo da célula, devem também ser levados em conta aquando da análise citológica. Um rácio N:C baixo indica células com núcleo relativamente pequeno e uma quantidade vasta de citoplasma, contrastando com células com rácio N:C alto, que indicam células com escassas quantidades de citoplasma. As células mesenquimatosas e epiteliais que tenham um rácio N:C elevado, são altamente sugestivas de malignidade. Em certas células pequenas, como por exemplo nos linfócitos maduros, o rácio N:C normal destas células é alto. Já em células grandes e com rácios N:C elevados, esta informação toma maior relevância já que são alterações que indiciam a presença de células fracamente diferenciadas. A existência de uma marcada variação no rácio N:C numa determinada população é um achado citológico relevante, no entanto, esta variação pode ser normal caso esteja a ser avaliada uma lâmina de, por exemplo, tecido linfóide normal ou uma raspagem que contenha células escamosas em diferentes estágios de maturação, tendo as células nos dois casos anteriormente descritos uma variação completamente normal no rácio N:C (Meinkoth et al., 2014). Outras estruturas que podem apresentar alterações são os nucléolos. Os nucléolos em células normais têm diâmetros que rondam 1 a 2 micrómetros (μm). Em certos casos existem macro nucléolos, e se o diâmetro destes nucléolos aumentados for superior a 5 micrómetros, consideram-se sugestivos da presença de um processo maligno. Sendo estruturas normalmente redondas, se forem encontradas formas fusiformes, angulares ou casos de pleomorfismo a nível

do nucléolo são considerados também indicativos de um processo potencialmente maligno. Excluindo os tecidos linfoides e a medula óssea, as figuras mitóticas são achados raros, e assim sendo, o aumento destas figuras mitóticas numa citologia, associada ou não a um desalinhamento dos cromossomas, são outro indicador de malignidade. O aspeto da cromatina pode sugerir em que condições se encontra a célula, assim sendo, núcleos com cromatina com padrões muito grosseiros podem sugerir malignidade. É importante realçar que, se por um lado as células diferenciadas têm cromatina condensada, que cora de um roxo escuro, por outro, a cromatina de células imaturas cora em tons mais claros onde é notável a falta de agregados de heterocromatina, que é normalmente descrita como dispersa. Não existe nenhuma característica que diferencie, imediata e irrefutavelmente, uma lesão benigna de uma lesão maligna (Meinkoth et al., 2014). Segundo Alleman e Bain (2000) e Meinkoth, Cowell e Tyler (2014), um diagnóstico de malignidade pode, normalmente ser realizado, se três ou mais critérios nucleares estiverem presentes na maioria das células da população que se encontra no esfregaço. Peleteiro (2011) indica que certas características têm mais peso na identificação de malignidade. Anisocariose e anisocitose marcadas, ou a presença de mitoses atípicas são exemplos dessas características. Deve ser realçado que, em certos casos, a inflamação pode induzir hiperplasia reativa, e assim mimetizar malignidade em tecidos epiteliais ou mesenquimatosos. É de extrema importância que esfregaços com populações celulares mistas, ou seja, com células inflamatórias e não inflamatórias, sejam interpretados com cautela. Deve sempre ser levado em conta a história pregressa do animal, assim como, a localização da lesão e o tipo específico de tecido de origem para atingir uma resposta o mais segura possível aquando da avaliação do potencial de malignidade do tecido presente no esfregaço. Em caso de dúvida o material deverá ser sempre remetido para histopatologia, o método de eleição para o diagnóstico deste tipo de lesões (Meinkoth et al., 2014).

10. Lesões Cutâneas e Subcutâneas - Interpretação Citológica

Uma das utilizações basais da citologia é a capacidade de classificar lesões, de modo a fornecer informações sobre diagnóstico, prognóstico e procedimentos a realizar em cada caso. As citologias podem ser interpretadas como não neoplásicas ou neoplásicas. As lesões não neoplásicas podem ser distinguidas entre normais, hiperplásicas, deformações nodulares não neoplásicas e lesões inflamatórias. As lesões neoplásicas podem classificadas como malignas ou benignas e distinguidas segundo o tipo de células presente como epiteliais, podendo este ser glandular ou não glandular (Tennant, 2014), mesenquimatosas e de células redondas (Raskin, 2011; Peleteiro, 2011; Tyler et al., 1989).

10.1. Lesões Não Neoplásicas

10.1.1. Tecido Normal ou Hiperplásico

Os tecidos normais ou hiperplásicos são normalmente compostos por células diferenciadas. Células normais demonstram uniformidade em termos de forma e tamanho da célula, núcleo e nucléolo. O volume citoplasmático é normalmente elevado em relação ao núcleo. A hiperplasia consiste num aumento tecidular não neoplásico que pode ocorrer devido a alterações hormonais ou como resposta a uma agressão (Raskin, 2010). A principal diferença entre aumento tecidular neoplásico e o aumento tecidular não neoplásico é que, no último, os tecidos têm tendência para aumentar simetricamente. Em termos de avaliação citológica, as células hiperplásicas têm um rácio núcleo-citoplasma aumentado, quando comparado com células normais (Raskin, 2010). Segundo Alleman e Bain (2000), aquando da avaliação de citologias de hiperplasia reativa no epitélio de transição da bexiga de animais com cistite, a emissão de um diagnóstico final deverá ser bastante cuidada já que neste caso, as alterações dos núcleos podem induzir a um diagnóstico de neoplasia. Um tipo de hiperplasia que deve ser levado em conta é a hiperplasia glandular das glândulas sebáceas (Marcos, Santos, Pissara & Peleteiro, 2011). Apresentam-se como pequenos nódulos, com menos de um centímetro, podendo projetar-se à superfície da pele, com morfologia de verrugas. São comuns em cães mas raras em gatos. Consistem em lóbulos sebáceos, organizados em volta de uma estrutura em forma de ducto, revestidas por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado. A análise citológica não permite a distinção entre estas lesões e os adenomas sebáceos, assim como, outro tipo de proliferação das glândulas sebáceas. Esta dificuldade na distinção entre lesões não consiste num problema, já que a abordagem terapêutica é a mesma em qualquer um dos casos, sendo a excisão cirúrgica o tratamento escolhido para a resolução de qualquer uma das situações.

10.1.2. Deformações Nodulares Não Neoplásicas

Algumas deformações nodulares que podem ser encontradas na pele dos animais de companhia correspondem a processos não neoplásicos. Dentro desta categoria podem ser incluídos processos como quistos, acumulação de sangue ou plasma em espaços tecidulares sem parede própria e hiperplasia de glândulas anexas, sendo as mais importantes as glândulas sebáceas (Marcos et al., 2011).

10.1.2.1. Quistos Cutâneos

A formação de quistos cutâneos (figuras 8 e 9) é comum em cães e gatos, sendo mais frequente em animais de idade avançada (Marcos, 2011). Existem quistos que se formam pela retenção de queratina nos infundíbulos pilosos, atingindo dimensões que raramente ultrapassam os três milímetros. A superfície destas estruturas é normalmente lisa, variando a sua firmeza consoante a tensão do conteúdo contido no seu lúmen. A parede destes quistos é formada por epitélio

estratificado, o que resulta num aspirado que é quase na sua totalidade, formado por escamas de queratina. Podem ainda ser identificados corneócitos e grânulos de querato-hialina dispersos em pano de fundo (Marcos et al., 2011). No caso de quistos formados por distensão dos ductos de glândulas sebáceas, o aspirado contém secreção sebácea. A aspiração destes quistos resulta em citologias mais espessas e com material amorfo (Marcos et al., 2011). Os quistos cutâneos podem romper devido a variadas razões tais como um grande aumento de tensão, ou devido a agressões resultantes de, por exemplo, lambeduras. Nestas situações, o contato da queratina com a derme resulta numa reação inflamatória do tipo corpo estranho, e consequentes características de inflamação piogranulomatosa. O conteúdo destes quistos torna-se mais rico em material necrótico e a surgem de forma comum cristais de colesterol (Marcos et al., 2014). Outros quistos resultam da distensão de ácinos de glândulas apócrinas, devido a bloqueio dos ductos. Nestes casos os aspirados são normalmente acelulares, podendo conter células glandulares, arredondadas e vacuolizadas (Marcos, 2011).

Figura 8 - Quisto folicular (1). x10. (original).

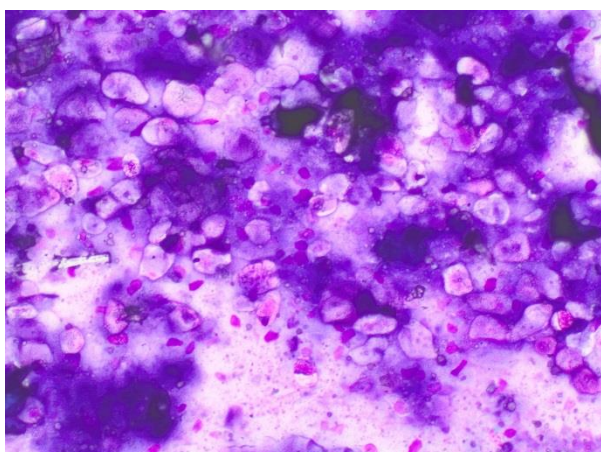
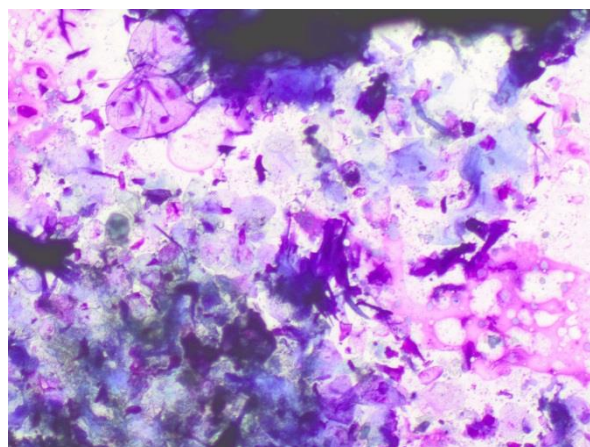


Figura 9 - Quisto folicular (2). x10. (original).



10.1.2.2. Lesões Nodulares Não Quísticas e Não Neoplásicas

Dentro deste grupo de lesões, onde se recorre normalmente a punção por agulha fina como método de diagnóstico, enquadram-se os hematomas, os seromas e as lesões do tipo calcinose circunscrita. Os hematomas são hemorragias que ocorrem em espaços tecidulares confinados. Nas amostras citológicas estão presentes eritrócitos com morfologia mais ou menos preservada, dependendo do tempo que decorreu desde a lesão, sendo a ausência de plaquetas comum. Podem estar presentes macrófagos mostrando eritrofagocitose recente ou não recente. No primeiro caso são encontrados eritrócitos fagocitados enquanto que no segundo surge um pigmento azulado, denominado hemossiderina (Marcos et al., 2011). Os seromas consistem em coleções de líquido pouco celular, contendo variáveis quantidades de proteína. São resultado de trauma ou lesões inflamatórias onde se deu saída de conteúdo plasmático proveniente de

capilares lesados ou imaturas. Conjuntamente com a saída de plasma, podem também sair, ou não, de alguns elementos figurados do sangue. O líquido aspirado pode assim ser incolor ou ligeiramente sanguinolento (Marcos et al., 2011). Durante a análise citológica podem ser observados escassos macrófagos vacuolizados e um número variável de eritrócitos. A calcinose consiste numa lesão que resulta da deposição de sais de cálcio na camada mais profunda da derme ou no tecido subcutâneo (Marcos et al., 2014). Na análise citológica, podem ser observados escassos macrófagos, com células gigantes de corpo estranho, sobre um fundo basófilo e granular de onde se destacam pequenas estruturas refringentes, correspondendo estas últimas aos cristais de cálcio.

10.1.3. Lesões Inflamatórias

Para a determinação do tipo de lesão inflamatória, a quantidade e proporções das diferentes células inflamatórias tem de ser avaliada (Tyler et al., 1989). As células inflamatórias a ter em conta são neutrófilos, eosinófilos, macrófagos e linfócitos. Em reações alérgicas, podem estar presentes um pequeno número de mastócitos (Tyler et al., 1989).

10.1.3.1 Inflamação Neutrofílica

Um processo inflamatório (figura 10) é considerado neutrofílico caso, aquando da análise citológica, se verifique que a percentagem de polimorfonucleares neutrófilos ascende aos 85% do total de células presentes. Os neutrófilos presentes nestas preparações citológicas podem ser classificados, com base na sua morfologia, em degenerados e não degenerados (Tennant, 2014). Os neutrófilos não degenerados assemelham-se aos neutrófilos encontrados nos esfregaços de sangue periférico, já os neutrófilos degenerados apresentam alterações na morfologia nuclear (Marcos et al., 2011). Nestas células, a degenerescência nuclear surge devido a agressões às células ou devido a toxinas libertadas por bactérias (Tennant, 2014; Marcos et al., 2011). Estas agressões resultam em alterações de permeabilidade das membranas citoplasmática e nuclear, resultando numa maior entrada de água nestas estruturas. À medida que o núcleo aumenta de tamanho, toma um aspeto menos corado devido à dispersão da cromatina. A este fenómeno dá-se o nome de cariólise que, quando detetado durante a análise citológica, indica ao citologista que devem ser procurados os elementos responsáveis pela agressão aos neutrófilos (Tennant, 2014). Durante os processos inflamatórios, os neutrófilos podem ainda apresentar picnose ou cariorrexis. No primeiro caso, o núcleo destas células torna-se extremamente escuro, devido à concentração de cromatina, e é resultado de uma prolongada exposição a um ambiente de baixa toxicidade bacteriana. No segundo caso, O núcleo surge fragmentado em pequenas porções rodeadas por membrana e corresponde a uma das últimas fases da morte celular (Marcos et al., 2011).

10.1.3.2. Inflamação Granulomatosa e Piogranulomatosa

Um processo inflamatório pode ser considerado granulomatoso quando mais de 50% da população celular é constituída por macrófagos (Marcos., 2011). Um diagnóstico mais comum é o de inflamação piogranulomatosa, onde a população celular é constituída por macrófagos, que podem representar entre 30% a 50%, e neutrófilos que podem apresentar variações entre os 50% e 70%. Este tipo de resposta inflamatória pode ser resultado de corpos estranhos, fungos, parasitas e infeções bacterianas por micobactérias. Os macrófagos podem assumir uma variedade de formas aquando a realização de uma análise citológica. Surgem frequentemente como células grandes, de limites pouco definidos e com um pequeno rácio núcleo-citoplasma (N:C). O seu citoplasma é abundante, pouco corado e vacuolizado. Os macrófagos podem ainda ser chamados de células epitelioides ou de células gigantes multinucleadas. As primeiras são macrófagos que se assemelham a células epiteliais pois tendem a formar grupos, e formam-se no contexto de reações imunomediadas. As células gigantes multinucleadas, resultam da fusão de macrófagos e são indicativas da presença de corpo estranho (Marcos et al., 2011).

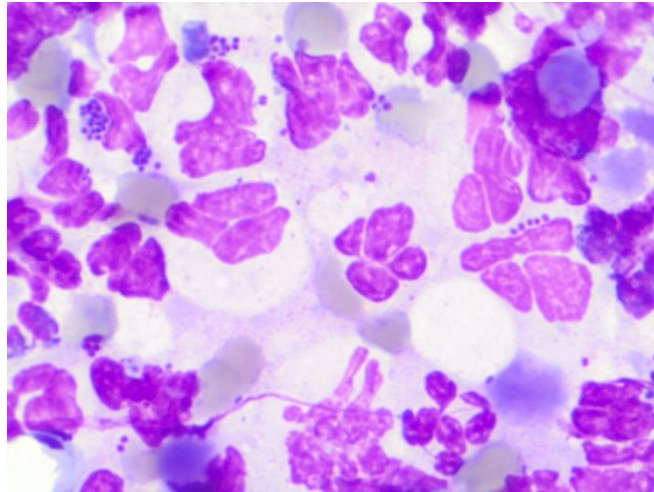
10.1.3.3. Inflamação Linfoplasmocitária

Quando a maioria das células presentes num processo inflamatório são linfócitos e plasmócitos, a inflamação toma o nome de linfoplasmocitária. Estes infiltrados inflamatórios compostos exclusivamente por estes dois tipos de células são raros, embora possam surgir durante a análise das almofadinhas plantares dos gatos. Regra geral, a presença de plasmócitos em infiltrados do tipo misto ou granulomatoso é indicativa de evolução crónica da lesão (Marcos et al., 2011).

10.1.3.4. Inflamação Mista

Neste tipo de inflamações, não há predomínio de nenhum tipo celular, sendo observados pelo menos 3 tipos de células inflamatórias (Marcos et al., 2011). Em certas ocasiões, a percentagem de eosinófilos pode ascender a intervalos entre os 10% e os 15%. Neste caso é considerado que as inflamações têm um componente eosinofílico. As inflamações puramente eosinofílicas são muito raras, e podem ser encontradas em lesões do complexo eosinofílico felino. Regra geral a presença destas células sugere lesões de etiologia alérgica ou parasitária. Embora possam surgir infiltrados de mastócitos neste tipo de reações, o seu número é sempre inferior ao número de eosinófilos (Marcos et al., 2011).

Figura 10 - Lesão inflamatória. Presença de neutrófilos e bactérias. x100. (original).



10.2. Lesões Neoplásicas

10.2.1 Epiteliais

As neoplasias que se encontram dentro desta categoria têm, tal como o nome indica, origem num tecido epitelial. Esta categoria de neoplasias tem tendência para esfoliar um grande número de células, que podem surgir em agregados. Neoplasias pouco diferenciadas podem esfoliar menos, resultando num aumento do número de células individuais devido à diminuição da coesão intercelular (Tyler et al., 1989). Embora a citologia seja uma análise de células que esfoliam, por vezes a estrutura celular original que está presente nos tecidos é mantida aquando da preparação dos esfregaços, o que pode resultar em padrões celulares tubulares ou acinares (Tyler et al., 1989). As células de tumores epiteliais tendem a ser grandes a muito grandes, com quantidade de citoplasma moderada a abundante e núcleo redondo. O núcleo tem normalmente cromatina de aspeto fino, que se torna mais grosseira quanto maior for o potencial de malignidade. O núcleo das células pode conter um ou mais nucléolos proeminentes, que se tornam maiores e com formas irregulares com o aumento do potencial de malignidade. Células epiteliais malignas apresentam variações marcadas no tamanho e forma da célula, do núcleo e dos nucléolos. Outro parâmetro que deve ser avaliado é o rácio N:C, que surge aumentado em células malignas (Tyler et al., 1989). Em casos de neoplasia benigna, onde não ocorram processos displásicos devido a inflamação ou qualquer outra lesão tecidual, as células surgem com aparência normal ou com núcleos ligeiramente mais proeminentes mas ainda com forma e tamanhos razoáveis, com citoplasma ligeiramente mais basófilo e o rácio N:C um pouco aumentado. Em casos de inflamação ou qualquer outra lesão tecidual as células epiteliais podem tornar-se displásicas. Células em displasia podem surgir com alterações leves a moderadas no tamanho e forma da célula, núcleo e nucléolo, assim como, aumento do rácio N:C. No entanto, alterações bizarras e exuberantes no núcleo e nucléolos de células displásicas são raras. Agressões aos tecidos podem

conduzir a displasia celular, podendo originar dúvidas aquando da avaliação da análise citológica. Em caso de dúvida entre displasia e neoplasia a amostra deverá ser sempre enviada para histopatologia ou a causa da displasia avaliada, tratada, realizando depois uma nova citologia (Tyler et al., 1989).

10.2.1.1. Tumores dos Folículos Pilosos

Existem algumas lesões que, quando aspiradas, contêm grande quantidade de detritos de queratina. A queratina torna-se azul após a coloração das lâminas e podem também ser visualizadas células epiteliais anucleadas, cristais de colesterol e até fragmentos de pêlos. Entre as lesões que podem ser ligadas a estes achados citológicos encontram-se os tricoficulomas, tricoepiteliomas, acantomas e pilomatricomas. É impossível diferenciar citologicamente as lesões acima referidas, no entanto, todas têm carácter benigno exceto os pilomatricomas e os tricoepiteliomas que podem ter formas malignas. É aconselhada a excisão das lesões de modo a serem avaliadas a nível histopatológico e para prevenir situações de inflamação, infeção ou ulceração (Fisher, 2014).

10.2.1.2. Papiloma

Os papilomas são neoplasias comuns em cães mas raras em gatos (Fisher, 2014). Estes tumores têm um aspeto grosseiro muito variável. Os papilomas exofíticos surgem como uma massa singular ou múltipla, que pode surgir de forma nodular a pedunculada. São lesões que surgem de forma mais comum na cabeça e nas extremidades. As amostras aspiradas dos papilomas são moderadamente celulares, com presença de células individuais que normalmente se assemelham a células epiteliais escamosas (Fisher, 2014).

10.2.1.3. Tricoblastoma

Estes tumores representam o que antes eram denominados de tumores das células basais em cães e gatos e pensa-se que estas neoplasias tenham uma origem folicular. Os carcinomas de células basais e outros epiteliomas podem ter aparências citológicas similares, assim sendo, a caracterização definitiva requer sempre análise histopatológica. Continua a utilizar-se a nomenclatura de tumor das células basais como termo de diagnóstico geral que envolve este tipo de neoplasias, no entanto, a maioria destes tumores são tricoblastomas. Os tricoblastomas são neoplasias comuns em cães e gatos, tendo como características o aparecimento de massas solitárias, firmes, alopecicas, em forma de cúpula ou polipoide e que podem ulcerar quando atingem dimensões consideráveis. A aparência no caso dos gatos é em tudo similar, contudo, é comum as lesões serem pigmentadas com as zonas centrais da lesão necrosadas ou com formação de quistos. Os aspirados destas lesões tendem a ser moderada a altamente celulares, com aglomerados em forma de paliçada ou trabecular. As células caracterizam-se por um tamanho pequeno a moderado, núcleo redondo com pouca quantidade de citoplasma. Por vezes é

visível um material que cora de rosa ao redor da periferia dos aglomerados celulares, que pode ser identificado como membrana basal (Fisher, 2014).

10.2.1.4 Carcinoma das Células Escamosas

Os carcinomas das células escamosas são comuns em cães e gatos e podem surgir em qualquer localização da pele embora ocorram mais frequentemente em áreas suscetíveis a lesões derivadas da exposição solar, tendo uma maior incidência em gatos de pelo branco e cães de pelo curto. No caso dos gatos, as suas localizações mais frequentes são o pavilhão auricular, o plano nasal e pálpebras, no caso dos cães, surgem mais frequentemente no abdômen ventral e flanco (Fisher, 2014). Estes tumores podem ser alopecicos, eritematosos e ulcerados, estando normalmente presente crostas. Colher amostras destas massas pode ser complicado devido à falta de massas distintas e ulceração das mesmas. Para além disso, a queratina que é produzida por este tipo de tumores é conhecida por poder induzir uma reação inflamatória marcada, resultando num aumento de dificuldade de interpretação citológica. No caso de ser possível colher material através de aspiração, é esperado que a amostra seja altamente celular. Em casos onde a aspiração seja impossível a realização de uma raspagem nos limites da lesão pode ter valor de diagnóstico. As células surgem normalmente em grupos ou individualmente. Os seus núcleos variam em termos de tamanho e de condensação de cromatina, sendo os nucléolos normalmente indistintos. Algumas das alterações visíveis aquando da avaliação citológica são anisocitose, anisocariose e vacuolização peri nuclear moderada a marcada, imagens mitóticas e citoplasma com diferentes colorações, variando entre azul escuro e claro. Durante a avaliação da lâmina é possível identificar células grandes, repletas de citoplasma maturo que cora de azul claro, com um núcleo grande e imaturo que contém cromatina não condensada. Estas células demonstram assincronia na maturação do núcleo e do citoplasma (Fisher, 2014).

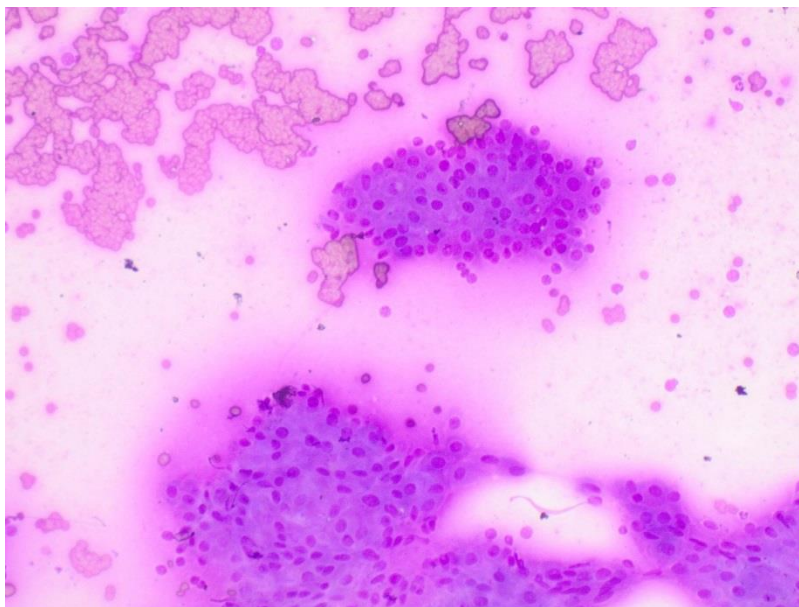
10.2.1.5 Adenoma Sebáceo e Epitelioma Sebáceo

Os adenomas e epiteliomas sebáceos são neoplasias comuns nos cães mas incomuns nos gatos. Ocorrem com maior frequência nos membros, tronco e pálpebras em cães enquanto que nos gatos, surgem preferencialmente na cabeça, pescoço e tronco. As lesões surgem como uma única massa, bem circunscrita, ligeiramente elevada, com uma superfície que pode ir de suave a lobular ou verrugosa. Os aspirados são moderadamente celulares, com grupos de células de tamanho variável, constituídos por células muito vacuolizadas e minimamente pleomórficas. Estas células vacuolizadas têm um rácio N:C reduzido e sem figuras mitóticas evidentes. As células de adenomas sebáceos são bem diferenciadas sendo impossível a sua distinção com células hiperplásicas. No caso dos epiteliomas sebáceos, a sua aparência citológica é similar aos adenomas sebáceos mas, em adição aos aglomerados de células vacuolizadas, surgem densos conjuntos de células basófilas, que são de tamanho menor e demonstram um rácio núcleo-citoplasma maior (Fisher, 2014).

10.2.1.6. Tumor das Glândulas Perianais ou das Células Hepatóides

Os tumores das glândulas perianais, também chamados tumor das células hepatóides (figura 11), são particularmente comuns em cães machos, idosos e inteiros. A sua localização típica é a zona perianal, embora possam surgir noutras localizações tais como períneo, prepúcio, coxa e na parte dorsal da zona lombo sagrada. Podem surgir como massas individuais ou múltiplas que, enquanto pequenas, tomam uma forma esférica ou ovoide mas que, ao crescerem, podem tornar-se multinodulares e ulceradas. As amostras resultantes dos aspirados destas lesões são altamente esfoliativos e consequentemente muito celulares, caracterizados por conjuntos de células grandes, ovoides ou cuboides com núcleos dispostos excentricamente e abundante citoplasma granular e cor de rosa, que se dispõem em agregados. Os tumores das glândulas perianais são normalmente benignos, no entanto, a citomorfologia não se correlaciona bem com o comportamento clínico do tumor, devendo sempre ser feita a análise histopatológica da lesão de modo conhecer a sua caracterização definitiva (Fisher, 2014).

Figura 11 - Tumor das glândulas perianais ou das células hepatóides. x4. (original).



10.2.1.7 Tumor das Glândulas dos Sacos Anais

Os tumores das glândulas dos sacos anais podem também ocorrer na área perianal mas, localizam-se normalmente na zona dos sacos anais, ou seja, numa posição ventrolateral ao ânus. São tumores mais comuns em cães idosos e são raros em gatos, sendo normalmente adenocarcinomas. Ocorrem sob a forma de uma massa intradérmica ou subcutânea que normalmente se infiltra profundamente nos tecidos peri rectais ao longo do canal pélvico. Apesar de serem normalmente adenocarcinomas, a sua análise citológica revela que as células não demonstram pleomorfismo. As células têm tamanho moderado, núcleos redondos, com citoplasma

pálido que pode ir de moderado a abundante. As células podem apresentar limites citoplasmáticos indistintos, mas quando são encontradas individualmente tendem a ter uma forma redonda. O núcleo das células é geralmente pontilhado e podem conter pequenos nucléolos visíveis (Fisher, 2014).

10.2.2 Mesenquimatosos

As neoplasias que se enquadram nesta categoria têm normalmente origem em células como fibroblastos, osteoblastos, adipócitos, miócitos ou endotélio vascular. Dentro desta categoria podemos enquadrar neoplasias como hemangiossarcomas, osteossarcomas e hemangiopericitomas. As células provenientes de tecidos mesenquimatosos podem ter formas fusiformes, poliédricas ou estreladas, com citoplasma ligeiramente basófilo e, excetuando os lipomas, limites citoplásmicos pouco definidos (Raskin, 2010, Tyler et al., 1989; Tennant, 2014). Os seus núcleos são redondos a elípticos com padrões de cromatina suave, sem nucléolos visíveis e um tamanho pequeno, quando comparadas com as células epiteliais (Tyler et al., 1989). Existem algumas características específicas deste tipo de neoplasias que devem ser levadas em conta aquando da análise citológica (Raskin, 2010). Este tipo de neoplasias, ao contrário das epiteliais, tende a esfoliar maioritariamente células individuais, embora em alguns casos possam surgir em grupos. À medida que a malignidade evolui em neoplasias mesenquimatosas, é possível visualizar alterações como aparecimento de nucléolos, a formação de um padrão rugoso de cromatina, a célula e o núcleo podem assumir formas anormais, o citoplasma torna-se mais basófilo e o rácio N:C aumenta. É importante realçar que as neoplasias de origem mesenquimatosas são normalmente difíceis, ou mesmo impossíveis de diferenciar entre si durante a análise citológica (Tyler et al., 1989). Nestas situações, o envio para laboratório de uma anamnese completa em conjunto com as lâminas, são uma mais valia para o citologista, podendo este atingir conclusões o mais seguras possível. Informações como o rápido crescimento da massa, comportamento infiltrativo e limites irregulares, associados a uma lâmina com ausência de células inflamatórias pode aumentar a suspeita de se se tratar realmente de um processo neoplásico (Fisher, 2014). Como descrito anteriormente no caso das células epiteliais, agressões aos tecidos podem conduzir a displasia celular. Em caso de dúvida aquando do exame citológico devem ser seguidos os mesmos passos descritos para as neoplasias epiteliais.

Figura 12 – Lipoma. x4. (original).

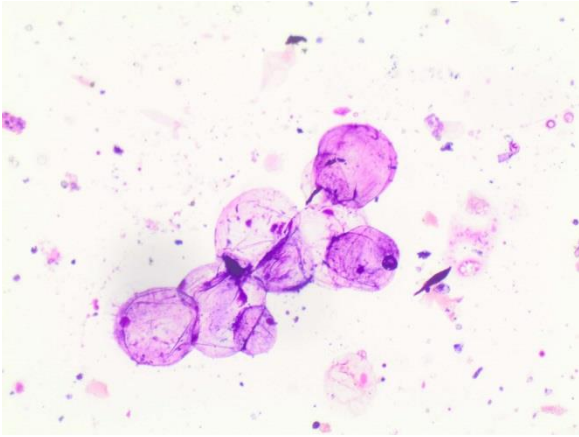


Figura 13 - Tumor de células mesenquimatosas (1). x10. (original).

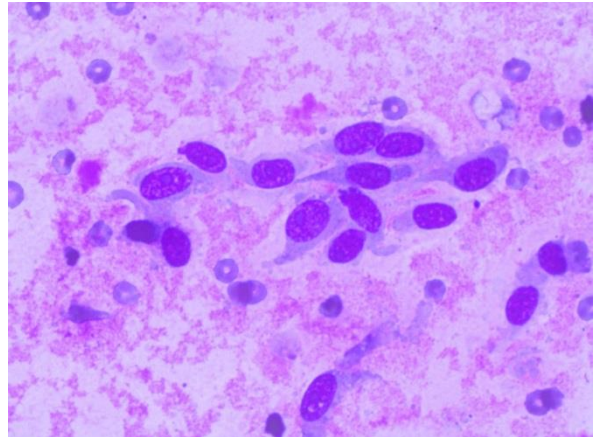


Figura 14 - Tumor de células mesenquimatosas (2). x10. (original).

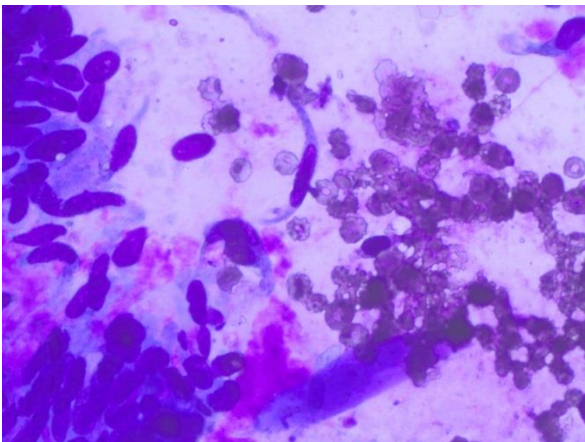
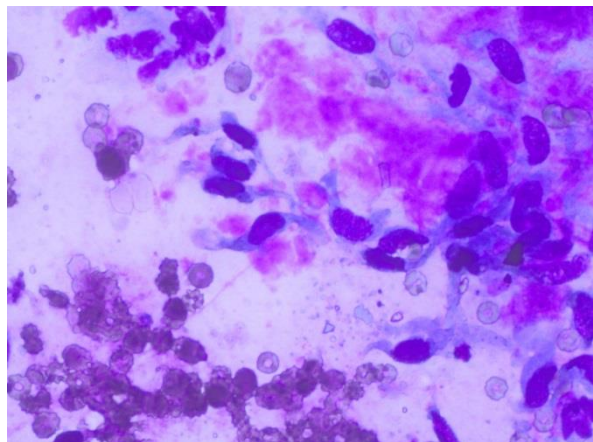


Figura 15 - Tumor de células mesenquimatosas (3). x10. (original).



10.2.2.1. Lipoma

Os lipomas (figura 12) são massas que se localizam subcutaneamente, comuns em cães e menos comuns em gatos. Podem-se apresentar sobre a forma de uma massa individualizada ou sobre a forma de múltiplos nódulos, localizando-se com maior frequência nos tecidos subcutâneos sobre o tórax, abdômen, coxas e zonas distais dos membros, sendo tumores que raramente ulceram. Os aspirados podem resultar num número variável de adipócitos, que se podem dispor individualmente ou em grupos. Juntamente com os adipócitos podem ser encontrados pequenos números de células fusiformes e lípidos livres. As lâminas, após a deposição do material aspirado, adquirem uma aparência oleosa. No caso da medicina veterinária, onde a maioria das colorações são tipo Romanowsky e estas colorações usam álcool como fixador, a gordura pode ser removida das lâminas durante o processo de coloração, tornando as lâminas acelulares. Os adipócitos que constituem os lipomas não podem ser diferenciados das células que compõem a gordura subcutânea, assim sendo, quando são realizados aspirados para colher material de massas subcutâneas é essencial evitar ao máximo não aspirar as zonas adjacentes à massa, de modo a evitar contaminação das lâminas (Fisher, 2014).

10.2.2.2. Lipossarcoma

Os lipossarcomas são tumores raros em cães e gatos. Normalmente ocorrem de forma individual e são encontrados no abdômen ventral, tórax e zonas distais dos membros. Os nódulos são normalmente pouco circunscritos, com textura que pode variar entre o firme e o pulposo e têm um comportamento idêntico aos outros sarcomas com origem nos tecidos moles. Os aspirados destes tumores podem variar entre moderada a altamente celulares. As células dispõem-se na lâmina individualmente ou em grupos, tendo uma aparência que pode variar entre formas arredondadas, ovóides ou fusiformes e tamanho moderado a grande, com quantidades variáveis de citoplasma pálido e núcleos redondos. A cromatina pode apresentar-se pontilhada ou rendilhada e podem ser vistos nucléolos em algumas células, assim como, figuras mitóticas (Fisher, 2014).

10.2.2.3. Tumores Mesenquimatosos dos Tecidos Moles

Os tumores assim denominados englobam diferentes tipos de sarcomas que são classificados consoante a presumível origem da célula progenitora. Existem pequenas diferenças citológicas existentes entre os vários tumores que compõem este grupo, e mesmo a nível histopatológico, por vezes é impossível determinar definitivamente a origem das células neoplásicas. Assim sendo, da perspetiva citológica, torna-se mais fácil agrupar, no caso dos cães, estes tumores dentro da categoria de células mesenquimatosas de tecido mole (figuras 13 a 15). Dentro desse grupo encontram-se assim os fibrossarcomas, mixossarcomas, hemangiopericitomas e vários tumores da bainha de nervos periféricos. Em termos de comportamento biológico, pode ser considerado que todos se comportam de maneira similar qualquer que seja a sua origem celular. A sua malignidade vai de baixa a moderada, com invasão local de tecidos e a propensão para recidivar após excisão. No caso dos gatos, os sarcomas de tecidos moles são normalmente fibrossarcomas que, caso estejam associados a locais de inoculação, podem ter maior potencial metastático e infiltrativo. A maioria destes tumores surge no tecido subcutâneo, podendo localizar-se em qualquer zona do corpo dos animais. O grau de esfoliação das massas é muito variável, podendo ir de baixo a altamente esfoliativo. As células dispõem-se individualmente ou em pequenos grupos pouco compactos, tendo uma forma alongada com limites celulares finos ou indistintos e núcleos em posição central, de tamanho moderado a grande. A cromatina é reticulada ou ponteadada e pequenos, embora bem distintos nucléolos podem estar presentes. O fundo das lâminas pode estar preenchido por uma matriz que cora de rosa e que envolve as células, sendo menos densa em casos de mixossarcoma e mais densa em casos de fibrossarcoma (Fisher, 2014).

10.2.2.4. Sarcoma Anaplásico de Células Gigantes

Antes chamados de fibrohistiocitoma maligno, estes tumores têm uma aparência citológica que os distingue dos restantes. Existe alguma controvérsia quanto à nomenclatura aplicada, com estudos recentes (Fisher, 2014) a sugerir que este tumor não se trata de uma entidade por si só e

sim de um conjunto de sarcomas com baixo grau de diferenciação que partilham características morfológicas semelhantes. Incluídos neste grupo encontram-se fibrossarcomas, leiomiossarcomas, rabiomiossarcomas, lipossarcomas e sarcomas histiocíticos. Surgem de forma similar à de outros sarcomas de tecidos moles e apresentam-se como massas grandes, individualizadas, firmes, mas circunscritas com localizações dérmicas e subcutâneas. São tumores moderada a altamente esfoliativos, encontrando-se as células tipicamente individualizadas, podendo também ser encontradas em grupos pouco compactos. A maioria das células são grandes e de formas redondas a ligeiramente fusiformes, com núcleos grandes e redondos, repletos de eucromatina e com nucléolos proeminentes. O seu citoplasma é abundante, pálido, granular e pode exibir um grau variável de vacuolização. A característica citológica que os distingue dos demais tumores é a presença de um número variável de células gigantes multinucleadas. Estas células podem conter até 30 núcleos, exibem figuras mitóticas em grande número e normalmente têm citoplasma abundante, pálido e granuloso (Fisher, 2014).

10.2.2.5. Hemangiossarcoma

Os hemangiossarcomas são muito difíceis de diagnosticar através de citologia. Estes tumores comprometem a vascularização local e podem ter estruturas cavernosas, resultando em aspirados pouco celulares e com demasiada contaminação sanguínea. No entanto, alguns tumores desta categoria podem ser mais densos e ter um maior grau de esfoliação celular. As células dispõem-se individualmente, demonstrando um aspeto pleomórfico e formas normalmente irregulares ou fusiformes. Tal como na avaliação de qualquer tipo de células fusiformes, uma análise baseada apenas em citologia é extremamente difícil, e em casos onde estão presentes células fusiformes reativas, por exemplo, durante a organização de um hematoma, podem apresentar características pleomórficas (Fisher, 2014).

10.2.3 Tumores Melanocíticos

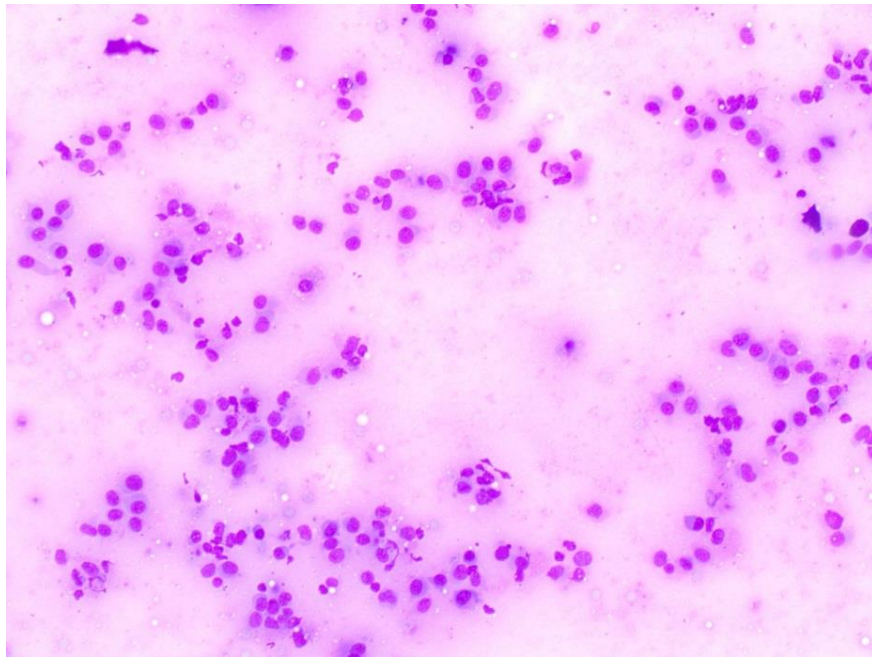
A classificação dos tumores melanocíticos não é consensual. Estes tipos de tumores são considerados por Meinkoth, Cowell e Tyler (2014) como os grandes imitadores. Aquando da análise citológica estas células podem apresentar características de tumores de células redondas, mesenquimatosas ou epiteliais. Podem surgir até uma mistura destes três aspetos celulares no aspirado de um só tumor. A terminologia para a classificação de tumor melanocíticos é complexa, mas geralmente utilizam-se os termos melanocitoma para lesões benignas e o termo melanoma para lesões malignas. Este tipo de tumores é relativamente comum em gatos e cães e, quando envolvem apenas pele destes últimos, têm normalmente um comportamento benigno, no entanto, quando surgem no leito ungueal ou na cavidade oral, o desenvolvimento clínico é, normalmente, mais agressivo. No caso dos gatos, tumores malignos e benignos ocorrem com igual frequência (Fisher, 2014). São tumores que surgem em animais mais velhos e que se caracterizam por ocorrerem maioritariamente na cabeça, pescoço, tronco e patas sob a forma de lesões

individuais. As lesões são tipicamente bem circunscritas, firmes a pulposas, com pigmentação escura, alopecicas e podem ter uma aparência variada, surgindo sobre forma de cúpula, massas pediculadas ou papilomatosa. Os aspirados provenientes destas lesões têm uma esfoliação moderada a alta com algum grau de contaminação sanguínea. As células encontram-se individualizadas ou em grupos. Quando encontradas de forma individual as células podem assumir diversas formas, assim sendo, podem ser encontradas células com formas redondas, formas estreladas e fusiformes. São células que podem estar densamente pigmentadas em tons que variam entre castanho escuro e preto devido a grânulos de melanina que podem ser mais ou menos grosseiros. Este pigmento anteriormente descrito pode ser de tal forma abundante que pode obscurecer todos os outros detalhes citológicos. No entanto, em certos casos, é possível aferir o detalhe dos núcleos. Em casos onde existam núcleos atípicos, tais como, casos onde está presente anisocariose, pleomorfismo, eucromatina, presença de figuras mitóticas e nucléolos proeminentes são sugestivos da presença de um processo maligno. Durante a análise citológica pode ainda ser visualizado pigmento livre no fundo da lâmina, assim como, melanófagos, ou seja, macrófagos com pigmento fagocitado. Estas células podem estar presentes em lesões não neoplásicas ou até mesmo em linfonodos, assim sendo, a presença destas células não deve ser automaticamente associada à presença de um tumor melanocítico (Fisher, 2014).

10.2.4. Células Redondas

As neoplasias de células redondas (figura 16) têm origem em células hematopoiéticas e encontram-se nesta categoria histiocitomas, linfomas, plasmocitomas, tumor venéreo transmissível e os mastocitomas. Estes últimos correspondem à neoplasia mais comum em cães e a segunda mais comum em gatos (Alleman & Bain, 2000; Raskin, 2010). Estas células são, tal como o nome indica, células de perfil ovoide ou redondo, de tamanho pequeno quando comparadas com células epiteliais, com núcleos redondos que esfoliam individualmente (Raskin, 2010) ou em grupos (Marcos et al, 2011). São células com características citológicas que mais frequentemente podem levar a diagnósticos definitivos (Fisher, 2014)

Figura 16 - Imagem genérica de um tumor de células redondas. x4. (original).



10.2.4.1 Linfoma Cutâneo

O linfoma cutâneo é geralmente dividido em dois tipos, epitéliotrópico e não epitéliotrópico. É impossível, através de citologia, diferenciar os linfomas nos dois tipos anteriormente referidos, sendo necessária uma avaliação histopatológica de modo a relacionar a distribuição de linfócitos e a epiderme. O linfoma não epitéliotrópico apresenta-se tipicamente com a forma de nódulos, dérmicos ou subcutâneos, alopecicos ou não, e que podem ter coloração em tons que podem ir do vermelho ao roxo. Os aspirados revelam uma população monomórfica de linfócitos, que podem ser de grandes ou pequenas dimensões, tendo diferentes condensações de cromatina. Aspirados que contenham populações de células monomórficas de tamanho grande e aparência linfoblástica, são consistentes com linfomas de grau moderado a alto, no entanto, aspirados contendo apenas células pequenas ou populações celulares mistas necessitam de biópsia para excluir a possibilidade de linfoma de células pequenas ou linfoma misto. O linfoma epitéliotrópico pode apresentar-se como prurido generalizado, eritema, descamação, despigmentação e ulceração, podendo surgir sobre forma de nódulos ou placas cutâneas, individuais ou múltiplas. Os linfócitos são por vezes descritos como grandes, sendo comum a presença de células inflamatórias (Fisher, 2014).

10.2.4.2. Mastocitoma

Os mastocitomas (figuras 17 a 19) podem ser considerados um dos tumores mais facilmente diagnosticáveis através de métodos citológicos. Devido à boa coloração que os grânulos dos mastocitomas adquirem aquando da coloração com métodos de Romanowsky, o diagnóstico pode ainda ser mais fácil do que em casos onde a coloração é feita com hematoxilina-eosina, como no caso da coloração de material biopsiado. A chave para esta facilidade no diagnóstico deste tipo de

tumores é a presença de grânulos citoplasmáticos em número variável, com aspecto fino ou grosseiro, no interior de uma célula de núcleo redondo e com grande quantidade de citoplasma pálido. Os mastocitomas ocorrem na pele de cães e gatos, embora possam surgir noutras localizações tais como fígado, baço e intestino. A aparência destes tumores é muito variável, podendo surgir eritematosos, alopecicos, em forma de massas ou placas edematosas, podendo em certos casos ulcerar. A contaminação do aspirado com sangue pode acontecer, sendo também comum a presença variável de algumas células inflamatórias. Os mastócitos têm um núcleo de tamanho médio e forma redonda com uma quantidade moderada de citoplasma. A presença de numerosos grânulos pequenos e de cor roxa, podem impedir uma correta visualização dos detalhes nucleares e citoplasmáticos. Em certos casos, o número de grânulos intracelulares está claramente diminuído, o que pode ser indicativo da presença de um processo tumoral indiferenciado. Os mastocitomas são classificados quanto à sua malignidade através de graus, sendo esta classificação impossível através de citologia. No entanto, características como diminuição do número de grânulos, anisocitose ou anisocariose podem sugerir que está presente um tumor de grau mais elevado (Fisher, 2014).

Figura 17 - Mastocitoma (1). x100. (original).

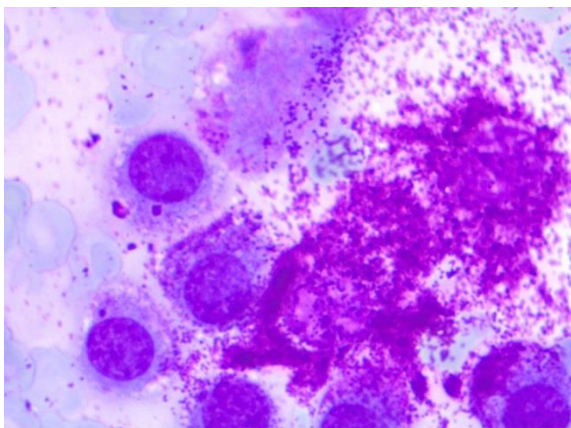


Figura 18 - Mastocitoma (2). x100. (original).

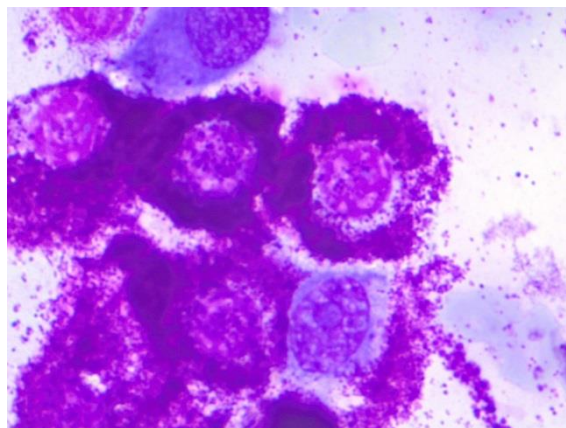
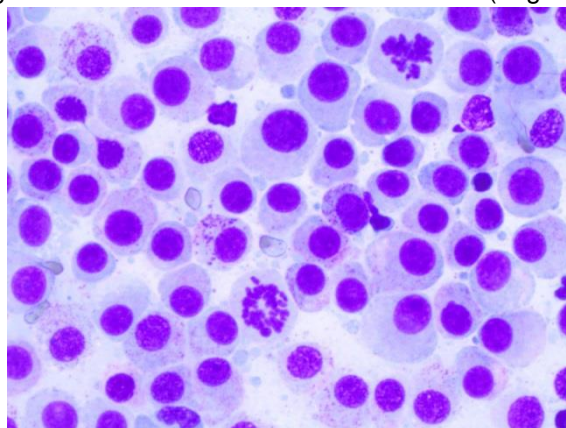


Figura 19 - Mastocitoma indiferenciado. x4. (original)



10.2.4.3. Histiocitoma

São tumores que normalmente surgem em animais antes dos dois anos de idade, embora possa ser visto também em cães mais velhos. Os histiocitomas compreendem as células de Langerhans que, são células intra epiteliais, dendríticas e que têm funções de apresentação de antígenos. São lesões que surgem individualmente embora, possam por vezes, surgir de forma múltipla e afetar linfonodos regionais. São lesões firmes, em forma de cúpula ou botão e têm uma localização dérmica, sendo comum dar-se a ulceração das lesões e subsequente infecção. A regressão espontânea é a evolução mais comum para tumores deste tipo, e um número aumentado de pequenos linfócitos pode ser visto em amostras destes tumores, relacionados presumivelmente, com a reatividade imunitária associada com a regressão. Os aspirados destes tumores (figuras 20 e 21) são tipicamente moderados a altamente celulares, com células redondas e individualizadas, com núcleo de tamanho médio e de forma redonda ou ligeiramente recortada, repleto de cromatina reticulada ou pontuada e com moderada quantidade de citoplasma pálido, ligeiramente granular. Podem ser visíveis figuras mitóticas e um fundo de lâmina com um aspeto proteico (Fisher, 2014).

Figura 20 – Histiocitoma. x4. (original).

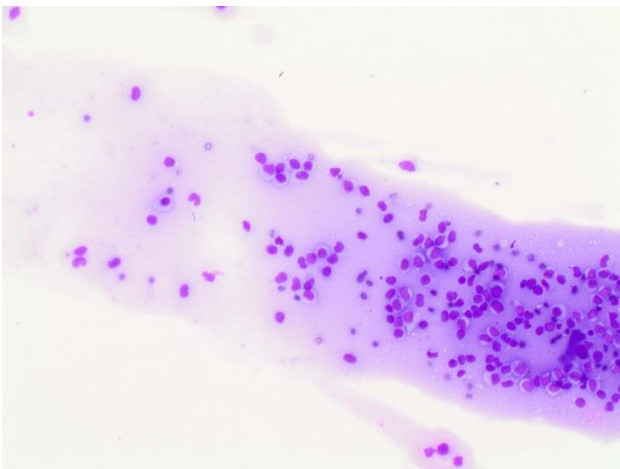
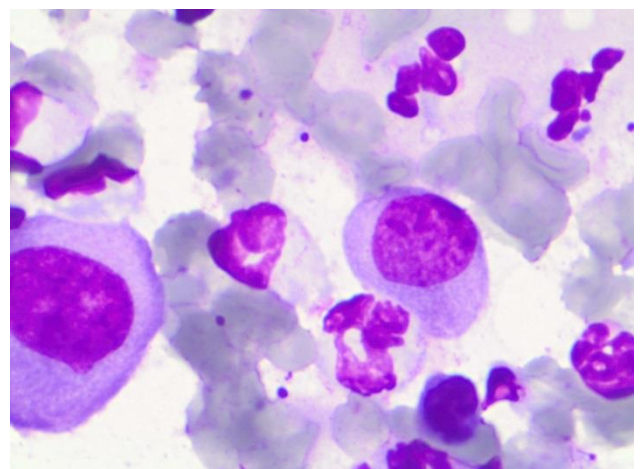


Figura 21 - Histiocitoma associado a reação neutrofílica, com presença de bactérias. x100. (original)



10.2.4.4. Sarcoma Histiocítico

Estes tumores podem ocorrer sob a forma de massas localizadas, ou sob a forma disseminada. A forma disseminada pode também ser denominada de histiocitose maligna. O sarcoma histiocítico ocorre com maior frequência em cães do que em gatos. A forma localizada tem normalmente origem no tecido subcutâneo embora, possa por vezes, ocorrer como uma doença localizada em órgãos internos. São geralmente lesões firmes, grandes e infiltrativas dos tecidos adjacentes. Os aspirados destes tumores são moderada a altamente celulares, estando as células dispersas individualmente ou em grupos pequenos e pouco compactos. De tamanho grande e forma

redonda a ligeiramente fusiforme, com grandes núcleos redondos e quantidade abundante de citoplasma que, normalmente, se encontra vacuolizado. Considera-se comum a visualização de figuras mitóticas e podem mesmo ser avistadas células multinucleadas (Fisher, 2014).

10.2.4.5. Plasmocitomas

Os plasmocitomas cutâneos são comuns em cães mas são considerados raros em gatos. No caso dos cães, os plasmocitomas cutâneos não estão normalmente associados com mieloma múltiplo sistêmico e são considerados benignos. O comportamento biológico deste tipo de tumores em gatos é menos conhecido. Surgem em cães de idade mais avançada e sobre forma de lesões individuais, podendo com menos frequência, surgir sobre a forma de lesões múltiplas. São lesões firmes, elevadas, suaves e com coloração que varia entre o rosa e o vermelho. Os aspirados variam entre celularidade moderada a alta, com células redondas e individualizadas. Podem ser visualizados grupos celulares, mas a coesão intercelular está ausente. São células com núcleos grandes e redondos, com posição excêntrica. A cromatina é grosseiramente reticulada ou pontuada, podendo existir nucléolos indistintos em algumas células. O citoplasma é abundante e de cor azul e em muitas células existe uma coloração de um azul mais claro na zona de golgi, ou seja, na zona peri nuclear. Normalmente estão presentes características como anisocariose e anisocitose, assim como, células binucleadas e células multinucleadas. Apesar das células atípicas que possam estar presentes, os tumores são normalmente benignos (Fisher, 2014).

10.2.4.6 Tumor Venéreo Transmissível

Este tipo de tumor surge em cães sexualmente ativos, sendo mais comumente encontrado na parte externa dos genitais, embora possam também ser encontrados na pele. Os tumores podem surgir como entidades individuais ou múltiplas, exibindo formas variáveis como massas nodulares, pedunculadas ou em forma de couve-flor. São normalmente firmes mas friáveis e ulceram com facilidade. Os aspirados (figuras 22 e 23) são normalmente muito celulares, repletos de grandes células redondas, núcleos redondos de tamanho médio, com cromatina pontuada e nucléolos no seu interior. A presença de vacúolos pelo citoplasma pode ajudar na diferenciação entre tumor venéreo transmissível e histiocitoma (Fisher, 2014).

Figura 22 - Tumor venéreo transmissível. x4. (original).

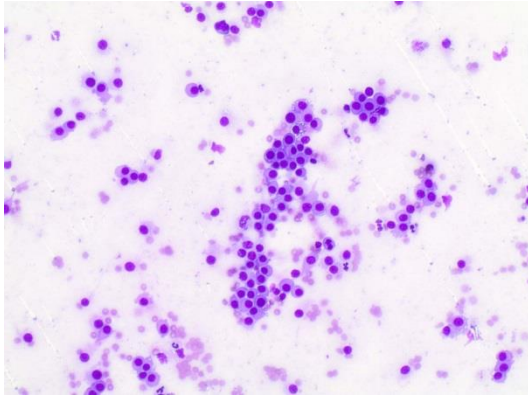
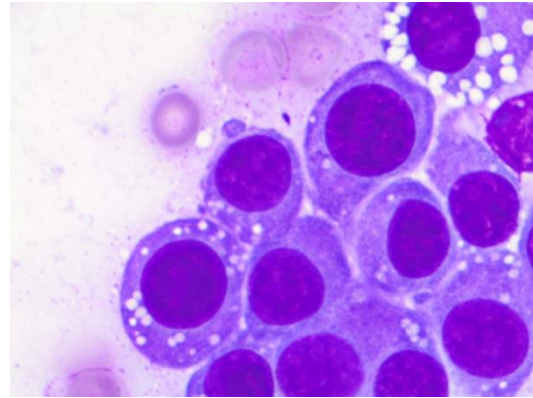


Figura 23 - Pormenor tumor venéreo transmissível. x100. (original).



11. Histopatologia

O exame histológico de um fragmento de tecido representativo de uma massa tumoral é o exame complementar mais fiável, sendo por isso o método de diagnóstico de eleição. A análise de um fragmento de tecido permite ao patologista a observação das componentes celulares do tumor, a sua arquitetura, ou seja, verificar se existe perda de organização tecidual e a sua relação com os tecidos normais adjacentes, visto que em certos casos, pode dar-se a invasão dos tecidos sãos por células neoplásicas (Morris & Dobson, 2001). O exame histopatológico deve sempre ser realizado após a remoção cirúrgica de toda e qualquer lesão. É necessário realçar que a citologia e a histopatologia são exames que se complementam, tendo indicações, vantagens e desvantagens diferentes e que devem ser utilizados em diferentes situações (Morris & Dobson, 2001).

12. Citologia na Clínica

Global e idealmente, todo o clínico deseja alcançar métodos complementares de diagnóstico o mais rápidos e económicos possível. O mesmo acontece para o diagnóstico de massas cutâneas e subcutâneas (Alleman & Bain, 2000). Os exames histopatológicos, ainda que sejam o método de eleição para o diagnóstico deste tipo de lesões, são exames com resultados relativamente demorados e que requerem colheitas de amostra de forma invasiva e diversas fases de processamento. Por um preço reduzido, e uma colheita de material atraumática e relativamente simples, a quantidade de informação que se pode obter é extremamente valiosa (Alleman & Bain, 2000). Inicialmente é possível ao clínico, ainda que com algum treino, colher uma amostra e imediatamente verificar se se trata de um processo inflamatório ou neoplásico (Simeonov, 2010). No caso de se verificar a presença de um processo neoplásico, é possível puncionar os linfonodos regionais, de modo a obter informação acerca do estadiamento, prognóstico e presença de metástases (Allen & Prasse, 2000; Alleman & Bain, 2000). Em casos de recidivas pós cirúrgicas, o exame citológico pode rapidamente e de forma fiável indicar a necessidade de uma nova cirurgia (Allen & Prasse, 2000, Alleman & Bain, 2000). Uma das desvantagens da utilização de citologia

como meio de diagnóstico na clínica veterinária é a frequência relativamente elevada com que se obtêm amostras que resultam em citologias insatisfatórias. Estas citologias não podem ser corretamente avaliadas e conseqüentemente não têm valor de diagnóstico. Estudos referem que existe consenso nas percentagens de citologias insatisfatórias. Ghisleni et al (2006), num estudo sobre massas cutâneas e subcutâneas, refere que 16,8% das citologias eram insatisfatórias, enquanto que Simeonov (2010), também num estudo sobre massas cutâneas e subcutâneas, refere valores de 17,3 %. Num estudo de Skeldon e Dewhurst (2009), foram avaliadas amostras enviadas para um laboratório de análises, sendo a percentagem de citologias insatisfatórias de 19,2 %. Os autores do estudo referem que a percentagem de citologias insatisfatórias pode ser a mais aproximada da realidade visto que nos estudos anteriormente referidos as citologias teriam sido realizadas em centros de referências, por clínicos mais experientes, diminuindo assim os erros de colheita e um aumento da viabilidade das citologias. No mesmo estudo de Skeldon e Dewhurst (2009), foi realizado um inquérito durante o congresso de 2008 da British Small Animal Veterinary Association. Este inquérito foi preenchido por 74 participantes, na sua maioria clínicos de pequenos animais. Como resultados foi concluído que em média eram realizadas 3,9 citologias por semana. Quanto à razão pela qual recorriam à citologia, permitindo múltiplas respostas, 74,3 % dos inquiridos respondeu "de modo a obter um diagnóstico definitivo", 70,3 % respondeu "para incluir ou excluir doenças específicas e, com a mesma percentagem, "decidir a terapêutica a aplicar". Finalmente, 51,4% responderam "como um exame de rastreio" e apenas 28,4 % respondeu "para fazer estadiamento ou procura de metástases". Foi também testada a percepção dos inquiridos perante a análise citológica, com o grupo analisado a considerar que apenas 14,2 % das amostras são rejeitadas por terem qualidade insatisfatória. Os autores concluem assim que, este estudo pode indicar que as expectativas dos clínicos para com o exame citológico são demasiado elevadas, falhando no reconhecimento das verdadeiras valências deste tipo de exame.

13. Fiabilidade da citologia

A utilização de punção por agulha fina e conseqüente análise citológica é um método de diagnóstico comumente utilizado em clínica, para avaliação de massas superficiais e profundas em animais. No entanto, não existem muitos estudos que relacionem a precisão da avaliação citológica através de colheita de material por PAAF, em casos de massas cutâneas e subcutâneas com as respetivas análises histopatológicas (Ghisleni et al, 2006). Dois estudos comparam a análise citológica realizada com material colhido por PAAF com a análise histopatológica da lesão. Segundo Ghisleni (2006), de um total de 243 casos válidos, em 90,9 % destes existiu correlação entre a análise citológica e a análise histopatológica. No estudo de Simeonov (2010), com um total de 248 casos válidos, é referida uma correlação de 88,7%. Os poucos estudos dedicados a esta área, demonstram valores elevados de concordância entre a análise citológica e histopatológica.

III. Estudo comparativo da análise citológica e histopatológica de nódulos cutâneos e subcutâneos em cães e gatos.

1. Introdução

A pele encontra-se permanentemente exposta a uma grande variedade de agressões físicas e químicas, assim como agressões provenientes de outros fatores ambientais. Este órgão, um sistema de defesa imprescindível, apresenta no entanto, uma elevada frequência de proliferações neoplásicas (Simeonov et al., 2011).

Os tumores da pele e tecido subcutâneo são os mais comuns em cães, representando cerca de um terço de todos os tumores encontrados nesta espécie (Finnie & Bostock, 1979; Bostock, 1986). Já em gatos, embora com menos dados publicados, é reconhecido que estas neoplasias representam cerca de 29,6 % do total de tumores diagnosticados (Hauck, 2013).

Considerando tumores primários, cerca de 20-40% dos tumores em cães são histologicamente classificados como malignos, existindo uma grande discrepância quando comparados com os gatos, já que nestes os valores variam de 69,7% até 82% (Hauck, 2013).

2. Material e Métodos

O estudo em seguida descrito foi realizado com base nos registos do laboratório do Hospital Veterinário do Oeste (HVO) e é composto por casos observados entre 2009 e 2013. Das análises citológicas que fazem parte deste estudo, constam análises internas do HVO e análises externas enviadas para o laboratório por parte de outros colegas. Deste estudo fazem parte 42 cães e 5 gatos, totalizando 47 animais. Dentro deste grupo de animais foram identificados 65 nódulos de localização cutânea ou subcutânea que foram analisados citologicamente no laboratório do HVO e, após remoção cirúrgica, enviados para os laboratórios INNO® e SEGALAB® de maneira a serem realizadas as respetivas análises histopatológicas. Neste estudo não foram incluídas lesões com origem na glândula devido às grandes variações nos aspetos citológicos, aquando da avaliação de várias áreas da glândula (Griffiths, Lumsden & Valli, 1984). As análises citológicas foram realizadas quando o estímulo iatrotópico consistia na presença de um nódulo ou devido a deteção de nódulos por parte do médico veterinário durante a consulta. Neste caso, no HVO, é sempre sugerido ao dono a realização de uma análise citológica de forma a tentar alcançar um diagnóstico, e assim, tomar decisões clínicas de forma rápida e assertiva, sendo responsabilidade do médico veterinário presente alertar previamente para a necessidade de ser necessária a

remoção cirúrgica do nódulo. Foi seguido o mesmo protocolo para todos os nódulos apresentados neste estudo, sendo colhido o material através de PAAF e envio do mesmo para laboratório. Após a análise citológica e tendo conhecimento do resultado, eram então tomadas as decisões terapêuticas. As citologias apresentadas neste estudo foram colhidas na sua totalidade *in vivo*, tendo sido o material enviado para histopatologia por remoção cirúrgica e em nenhum caso por necropsia.

O material utilizado para a realização das punções aspirativas por agulha fina é descrito abaixo:

- lâminas de vidro fosca num dos topos,
- lápis
- agulhas 20G (Braun®),
- seringas de 5ml (Braun®),
- álcool,
- algodão,
- tosquiadora

Todas as análises citológicas representaram nódulos cutâneos ou subcutâneos, sendo feita a desinfecção local com álcool com a realização de tricotomia quando necessário. Posteriormente foi realizada a punção aspirativa, utilizando seringas de 5 ml e agulhas com luer de record transparente de 20G. Utilizando este tipo de agulhas é possível verificar a migração do aspirado e, quando este atinge o record, a aspiração era cessada de imediato. A massa foi individualizada utilizando o polegar e o indicador de uma das mãos, sendo a introdução da agulha acoplada à seringa e retração do êmbolo com a outra mão. Os animais foram sempre contidos de forma correta, reduzindo o stress ao mínimo, tornando desnecessária a sedação em todos os casos incluídos no estudo. Após a introdução da seringa o êmbolo foi retraído, aplicando a pressão negativa sendo de seguida a agulha redirecionada várias vezes de modo a colher células de vários pontos da lesão, tornando a análise significativa. De seguida, e sempre antes da agulha ser retirada do interior da lesão de forma ao aspirado não ser sugado para o interior da seringa, o embolo foi libertado de forma suave. O processo foi repetido dependendo de cada caso, sendo sempre feita mais do que uma colheita, de forma a obter várias lâminas e assim aumentar a possibilidade de obter lâminas com informação de diagnóstico. De seguida era necessário depositar o material aspirado numa lâmina microscópica limpa e sem gordura, devendo esta ser segura apenas pelos bordos de forma a sua evitar conspurcação. A agulha deve ser desacoplada da seringa, o êmbolo retraído, a agulha acoplada de novo e, por pressão positiva devido ao avançar do êmbolo o material é expulso da agulha, diretamente para a lâmina. O bisel da agulha

deve estar voltado para baixo e o material deve ser colocado, quando possível, sobre a forma de uma gota única. A distribuição do material sobre a lâmina foi feita através da técnica de esmagamento, colocando uma lâmina, também limpa e desengordurada, perpendicularmente à que tem a amostra, e de seguida, sem exercer demasiada força, deslizando a segunda lâmina sobre a primeira, tentando realizar todo o procedimento de forma suave de forma a evitar a rotura de células. O objetivo deste procedimento era a obtenção de uma lâmina com células dispostas em monocamada que podiam assim ser corretamente avaliadas. O próximo passo foi a fixação de material, que neste estudo foi feita através da secagem ao ar, agitando as lâminas. As lâminas eram de seguida identificadas com um código único utilizado nas análises laboratoriais do HVO e com o nome do paciente, sendo acompanhadas de um registo com informação como o nome do paciente e do respetivo dono, nome do médico responsável pela colheita, idade, raça, localização do nódulo e o número de lâminas a analisar. A coloração era realizada com May-Grunwald-Giemsa ou Diff-Quick®.

O material colhido para histopatologia foi removido cirurgicamente e acondicionado em frascos contendo formol a 10%, sendo depois enviado para laboratórios externos, sendo as análises realizadas no laboratório Segalab® entre 2009 e 2012 e no laboratório Inno® no ano de 2013.

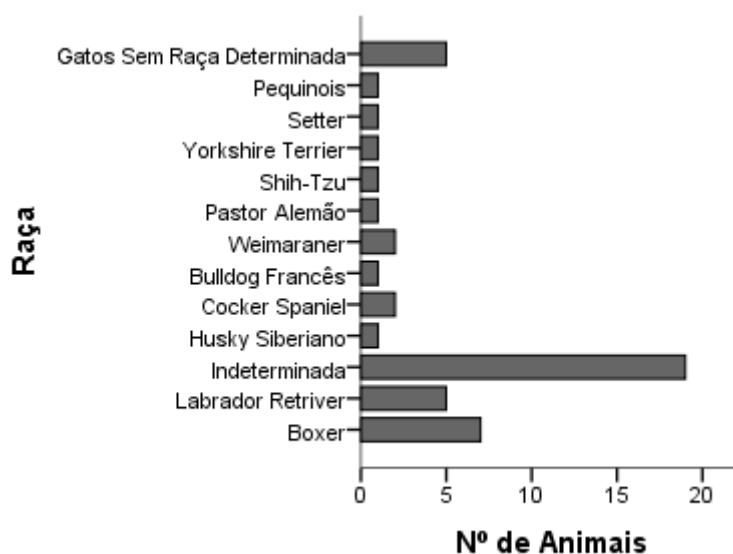
3. Resultados

De todos os animais presentes neste estudo foram recolhidos um conjunto de dados: idade, sexo, raça, espécie, localização do nódulo, resultado da análise citológica e o resultado da análise histopatológica. Dos 47 animais em estudo, 12 apresentavam diversas massas, perfazendo um total de 65 lesões.

Dos 47 animais, contabilizavam-se 5 (10,6%) gatos, dividindo-se em 1 (20%) fêmea e 4 (80%) machos, sendo os restantes 42 (89,4%) cães, dividindo-se estes em 18 (42,9%) machos e 24 (57,1%) fêmeas. As idades dos animais encontravam-se entre 1,5 e 17 anos, sendo a média de 8,830 anos e a moda de 11 anos.

Todos os gatos incluídos neste estudo não tinham raça determinada. No caso dos canídeos e representando a maioria dos casos, fizeram parte deste estudo 19 (40,4%) animais de raça indeterminada. As raças puras representadas em maior número foram: Boxer, com 7 animais (14,9%), Labrador Retriever com 5 animais (10,6%) e Cocker Spaniel e Weimaraner com animais 2 (4,3%).

Gráfico 1 – Raças dos animais em estudo



Das 65 lesões avaliadas, 14 (21,5%) foram classificadas como cutâneas, enquanto que 51 (78,5%) foram classificadas como subcutâneas.

Os resultados da análise citológica encontram-se descritos na tabela 2.

Tabela 2 – Resultados da análise citológica

Resultados da análise citológica	Nº Diagnósticos
Adenoma das glândulas perianais	13
Carcinoma de células escamosas	1
Tumor de células redondas	3
Mastocitoma	19
Tumor de células mesenquimatosas	10
Inconclusiva	5
Lipoma	5
Processo inflamatório granulomatoso	3
Quisto folicular	3
Tumor de células epiteliais	3
Total	65

Os tumores mais comumente diagnosticados através da análise citológica foram os mastocitomas, os adenomas das glândulas perianais e tumores genéricos de células mesenquimatosas.

Os resultados da análise histopatológica encontram-se descritos na tabela 3.

Tabela 3- Resultados da análise histopatológica

Resultado da análise histopatológica	Nº de Diagnósticos
Adenoma das glândulas perianais	15
Adenoma das glândulas sebáceas	2
Carcinoma das células escamosas	1
Dermatite mista crónica e furunculose	2
Fibroma	1
Fibrossarcoma	4
Foliculite e furunculose	1
Hemangiopericitoma	1
Infeção piogranulomatosa	1
Lipoma	4
Mastocitoma	20
Inflamação e Hiperplasia	1
Osteossarcoma	1
Pseudolinfoma	1
Sarcoma	3
Schwanoma	1
Tricoblastoma Quístico	1
Tricoepitelioma	1
Tricoepitelioma poliquístico	1
Quisto folicular	3
Total	65

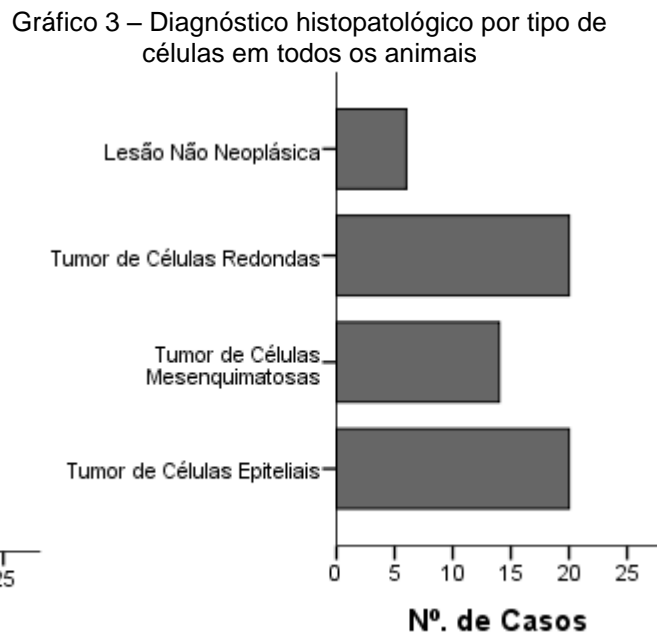
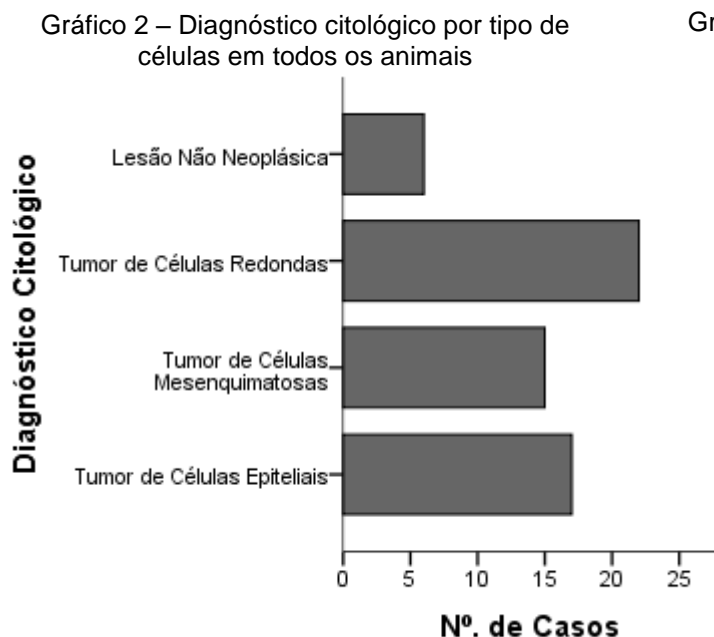
Os tumores mais comumente diagnosticados através da análise histopatológica foram os mastocitomas, os adenomas das glândulas perianais e os lipomas

Neste estudo, os tumores benignos mais diagnosticados através da análise histopatológica foram os adenomas das células perianais, sendo correctamente diagnosticados pela análise citológica em 13 (86,7%) dos casos. No caso das neoplasias malignas, o mastocitoma foi correctamente diagnosticado através da análise citológica em 18 (90%) dos casos.

Das 65 análises realizadas, 5 (7,7%) foram classificadas como inconclusivas, não podendo assim ser obtida informação com valor de diagnóstico. As análises inconclusivas eram provenientes de canídeos e foram excluídas do estudo. As exclusões acima referidas deveram-se à fraca celularidade dos esfregaços, inviabilizando assim uma correcta avaliação das mesmas. Dentro do grupo de análises excluídas, os resultados histopatológicos obtidos foram adenoma das glândulas

perianais (n=1), foliculite e furunculose (n=1), hemangiopericitoma (n=1), mastocitoma (n=1) e quisto folicular (n=1).

Das restantes 60 (92,3%) análises citológicas foi possível obter um diagnóstico e foram assim incluídas neste estudo. Foram diagnosticados processos neoplásicos em 54 dos esfregaços observados. 51 dos esfregaços classificadas como neoplásicas foram confirmados através da análise histopatológica, enquanto que, nos restantes 3 casos, foi feito um diagnóstico neoplásico



falso positivo. Os diagnósticos resultantes das análises citológicas resultaram em 17 (28,3%) tumores epiteliais, 15 (25,0%) tumores mesenquimatosos, 22 (36,7%) tumores de células redondas e 6 (10,0%) lesões não neoplásicas. Já os diagnósticos resultantes das análises histopatológicas resultaram em 20 (33,3%) tumores epiteliais, 14 (23,3%) tumores mesenquimatosos, 20 (33,3%) tumores células redondas e 6 (10,0%) lesões não neoplásicas.

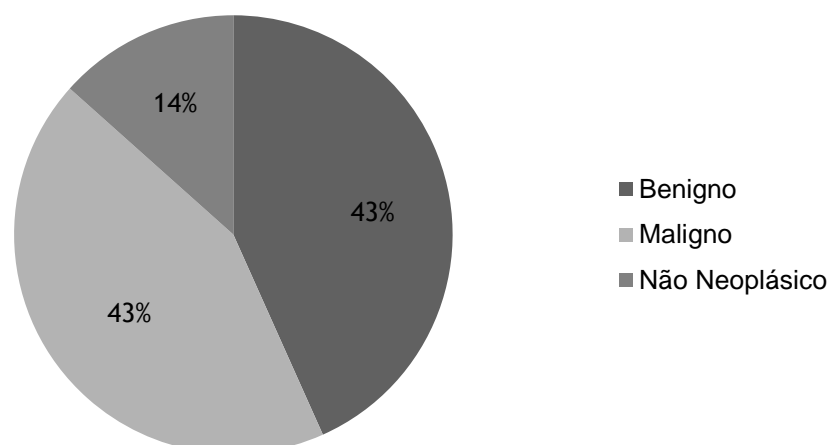
Comparando os resultados obtidos através das duas análises e apenas considerando os diagnósticos histopatológicos de neoplasia, a citologia classificou de forma errada 3 tumores de células epiteliais, classificando 2 como tumores de células mesenquimatosas e 1 como lesão não neoplásica. Do grupo de tumores de células mesenquimatosas a citologia classificou uma das lesões como não neoplásica. Já os tumores de células redondas foram todos correctamente diagnosticados através de citologia.

Tabela 4 – Erros de classificação citológica de neoplasias

Erros de Classificação Citológica de Neoplasias	
Diagnóstico Citológico	Diagnóstico Histopatológico
Tumor de células mesenquimatosas (n=1) Lesão não neoplásica (n=2)	Tumor de Células Epiteliais (n=3)
Lesão não neoplásica	Tumor de Células Mesenquimatosas

Considerando a tabela acima apresentada, a análise citológica classificou três lesões como falso negativo. Neste estudo, com base no diagnóstico histopatológico, foram diagnosticadas 28 (43,1%) neoplasias benignas, 29 (44,6%) neoplasias malignas e 8 (12,3%) lesões não neoplásicas.

Gráfico 4 – Lesões benignas, malignas e não neoplásicas em todos os animais



Num dos casos, a citologia classificou uma neoplasia benigna como maligna. Apenas 6 (9,2%) citologias foram classificadas como lesão não neoplásica. Em 3 (50%) casos a análise histopatológica foi concordante com o diagnóstico citológico, dividindo-se os diagnósticos em mucosas inflamadas (n=1), infecção piogranulomatosa (n=1) e quisto folicular (n=1). Nos restantes 3 (50%) casos foi feito um diagnóstico citológico de lesão não neoplásica sendo o diagnóstico histopatológico de fibrossarcoma (n=1), tricoepitelioma (n=1) e tricoepitelioma poliquístico (n=1). Para uma correta correlação e posterior análise, tendo por base o tamanho e características da amostra em estudo, os dados apresentados de seguida são referentes apenas a canídeos. A análise citológica classificou 15 (27,3%) neoplasias como epiteliais, 13 (23,6%) neoplasias como mesenquimatosas, 22 (40,0%) como neoplasias de células redondas e 5 (9,1%) como lesões não

neoplásicas. Já a análise histopatológica classificou 18 (32,7%) neoplasias como epiteliais, 11 (20,0%) neoplasias como mesenquimatosas, 20 (36,4%) como neoplasia de células redondas e 6 (10,9%) como lesão não neoplásica.

A análise histopatológica diagnosticou 26 (43,3%) lesões como neoplasia benigna, 26 (43,3%) lesões como neoplasia maligna e 8 (13,4%) como lesão não neoplásica.

Gráfico 5 – Diagnóstico citológico por tipo de célula em cães

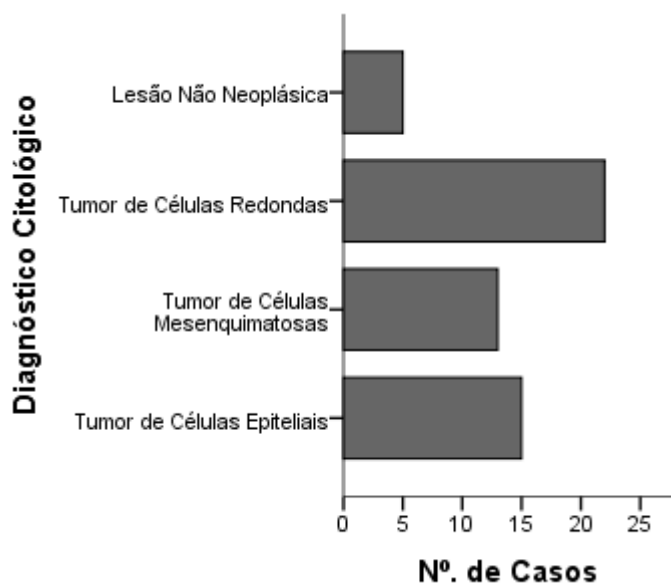


Gráfico 6 – Diagnóstico histopatológico por tipo de célula em cães

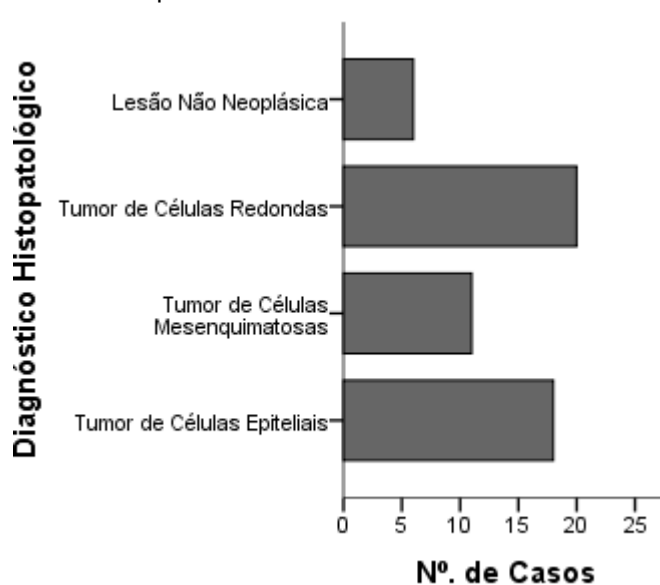
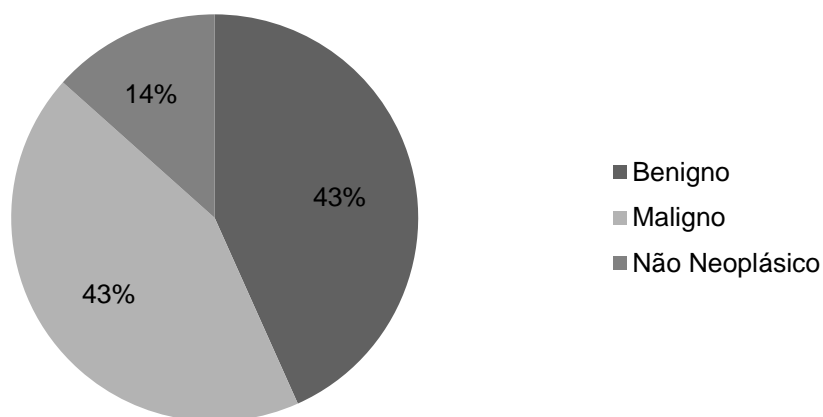


Gráfico 7 – Lesões benignas, malignas e não neoplásicas em cães



A correlação dos diagnósticos obtidos através da análise citológica e da análise histopatológica foi calculada através da estatística de KHAT. Para a realização deste cálculo, e tendo em conta as limitações do diagnóstico citológico, os resultados das duas técnicas foram agrupados em 4 categorias com base na sua população celular: epitelial, mesenquimatosa, redonda e não neoplásica.

Tabela 5 – Tabela de correlação de resultados entre citologia e histopatologia por tipo de célula

Comparação de Diagnósticos Citológicos e Histopatológicos						
		Diagnóstico Histopatológico				Total
		Tumor Células Epiteliais	Tumor de Células Mesenquimatosas	Tumor de Células Redondas	Lesões não Neoplásicas	
Diagnóstico Citológico	Tumor Células Epiteliais	15	0	0	0	15
	Tumor de Células Mesenquimatosas	1	11	0	1	13
	Tumor de Células Redondas	0	0	20	2	22
	Lesões não Neoplásicas	2	0	0	3	5
	Total	18	11	20	6	55

O diagnóstico foi concordante nas duas análises em 84,6% dos casos, no que toca ao diagnóstico de neoplasia, a citologia demonstra uma sensibilidade de 95,92%, uma especificidade de 50,00%, um valor preditivo positivo de 94,00% e um valor preditivo negativo de 60,00%.

4. Discussão

A punção aspirativa por agulha fina é um procedimento clínico rápido e de baixo custo que requer equipamento muito simples para a sua realização. Devido a estas razões a PAAF deve ser vista como uma técnica aplicável ao diagnóstico de várias lesões neoplásica e não neoplásicas (Ghisleni et al., 2006). Em Medicina Veterinária, não são muitos os estudo que correlacionaram os resultados da análise citológica com os resultados da análise histopatológica no que toca à avaliação de lesões cutâneas e subcutâneas. Neste estudo foram avaliados apenas casos onde foram obtidos os resultados de ambas as análises, sendo todo o material colhido *in vivo* para a análise citológica e intra cirurgicamente para a análise histopatológica. Não foram incluídas lesões mamárias devido às grandes variações nos aspetos citológicos, aquando da avaliação de várias

áreas da glândula (Griffiths, Lumsden & Valli, 1984). É necessário realçar que, para uma mais correta discussão e comparação de resultados, tendo em conta as características da amostra, apenas os dados referentes aos canídeos serão utilizados. Uma das grandes limitações da análise citológica é a obtenção de esfregaços passíveis de serem avaliados, sendo normalmente a baixa celularidade que inviabiliza a realização de um diagnóstico. Neste estudo, 7,7 % das citologias foram excluídas. Em estudos similares, Ghisleni (2006), num estudo que correlaciona análises citológicas e histopatológicas de 243 lesões, relata uma percentagem de 16,8 % e Simeonov (2010), num estudo com 248 lesões, uma percentagem de 17,3 %. O número de esfregaços classificados como inconclusivos é significativamente mais baixo neste estudo. Este facto pode ser resultado do tamanho da amostra ou, por vezes, em casos onde o diagnóstico é inviável, é pedido aos donos que tragam de novo o animal à consulta de forma a proceder a uma nova colheita de material. Entre as análises citológicas inconclusivas, confirmaram-se 3 (60%) lesões neoplásicas. No estudo de Ghisleni (2006), entre as 45 análises excluídas 32 (71%) foram classificadas como neoplásicas e no estudo de Simeonov (2010), das 52 análises excluídas, o seu diagnóstico histopatológico não é descrito no estudo. Os valores obtidos indicam que em casos onde a análise é classificada como inconclusiva, o seguimento do caso deve ser realizado de forma cautelosa pois existe sempre a possibilidade de se tratar de uma lesão neoplásica. Sempre que o citologista se depare com este tipo de situações, deve indicar que seja realizada nova aspiração, de forma a resolver esta limitação da técnica citológica.

As neoplasias mais comumente diagnosticadas neste estudo foram as neoplasias de células redondas, representando cerca de 36,4 % do total de diagnósticos histopatológicos, estando de acordo com o que se encontra descrito por Hauck (2013). No estudos de Ghisleni (2006) os tumores mais comumente diagnosticados histopatologicamente constavam do grupo dos tumores de células mesenquimatosas, enquanto que, no estudo de Simeonov (2010), as lesões diagnosticadas em maior número foram os tumores de células epiteliais.

As neoplasias em canídeos foram classificadas histopatologicamente como benignas e malignas em 50% dos casos. Entre os três processos neoplásicos benignos mais comumente diagnosticados, incluem-se adenomas das glândulas perianais, representando 25,0% do total de neoplasias, seguidos de lipomas, representando 3,0% e adenoma das glândulas sebáceas com 3,3%. No caso dos lipomas, este tipo de neoplasia é normalmente sub diagnosticado em estudos na área. Este facto é explicado pois no caso dos lipomas, a remoção destes tumores e a respetiva análise histopatológica só é realizada caso interfira com parâmetros como função ou mobilidade do animal ou se demonstram um crescimento muito rápido (Ghisleni et al., 2006). No conjunto das neoplasias de carácter maligno, os mastocitomas surgem como neoplasia mais comum, representando 33,3 % do total de neoplasias, seguindo-se os sarcomas não classificados com 5,0% e fibrossarcomas com 3,3%. Em comparação com vários estudos provenientes de diversas origens geográficas, tendo por base a histopatologia como método de eleição para o diagnóstico

de neoplasias cutâneas e subcutâneas, é possível averiguar a incidência destas neoplasias, tentando clarificar quais as lesões benignas e malignas que mais comumente surgem aquando da prática de clínica de pequenos animais. A quantidade de dados disponível é muito mais relevante no que toca aos cães, existindo dados de todas as partes do globo, totalizando um total de quase 9000 amostras (Hauck, 2013). Um estudo Grego, conduzido por Kaldrymidou et al. (2002), As neoplasias benignas totalizaram 53,4% e as malignas 46,6%. Nas neoplasias benignas diagnosticadas em maior número contam-se adenomas das glândulas perianais com 9,8%, lipomas com 5,7% e histiocitomas com 5,7 %. No conjunto de lesões malignas, a neoplasia com maior número de diagnósticos foi o mastocitoma com 13,8%, seguido do sarcoma de tecidos moles com 10,3 % e o carcinoma de células basais com 4%. O estudo baseado no Danish Veterinary Cancer Registry (DVCR), realizado na Dinamarca por Bronden, Eriksen e Kristensen (2010) teve como resultados percentagens de 66% para neoplasias benignas e de 21% para neoplasias malignas, existindo neste estudo uma percentagem de 13% onde o comportamento das neoplasias não foi descrito. Entre as neoplasias benignas mais comuns, destacam-se os lipomas e histiocitomas. Entre as neoplasias malignas, destacam-se mastocitomas e os sarcomas de tecidos moles. Os resultados do estudo Grego estão próximos do estudo realizado nesta dissertação de mestrado. O estudo Dinamarquês vai de encontro aos mesmos resultados quando comparamos as neoplasias malignas mais frequentes que são diagnosticadas em canídeos.

No estudo apresentado nesta dissertação de mestrado, os tumores das glândulas perianais foram corretamente diagnosticados através da análise citológica em 13 (86,7%) casos. Os restantes dois casos foram citologicamente diagnosticados como inconclusivo (n=1) e lipoma (n=1). No caso dos mastocitomas, o seu diagnóstico citológico foi correto em 18 (90%) casos. Nos restantes dois casos, os diagnósticos foram inconclusivo (n=1) e diagnóstico genérico de tumor de células redondas (n=1). Nos estudos de Ghisleni (2006) e Simeonov (2010), todos os mastocitomas foram diagnosticados citologicamente.

Embora no estudo de Ghisleni (2006) e Simeonov (2010) nenhuma citologia tenha diagnosticado uma neoplasia benigna como maligna, esta situação ocorreu em 1 dos casos apresentados neste estudo. O caso trata-se de um gato macho, europeu comum de 4 anos de idade, em que o diagnóstico citológico obtido foi de sarcoma e, após remoção cirúrgica, a análise histopatológica obteve um diagnóstico de lipoma. Perante este resultado, procedeu-se a uma reavaliação do diagnóstico realizado, concluindo-se que esta deveria ter sido classificada como inconclusiva devido a baixa celularidade.

Durante as análises citológicas, alguns dos resultados obtidos são diagnósticos genéricos, ou seja, não é possível determinar a origem exata das células presentes na lâmina, sendo possível identificar na mesma o tipo de células presentes. Ou seja, neste estudo, 15 (25%) lâminas incluídas no estudo foram classificadas segundo um diagnóstico genérico. Dessas 15 lâminas, 3

(20%) são provenientes de neoplasias de células redondas, 2 (13,3%) são provenientes de neoplasias epiteliais e 10 (66,7%) são provenientes de neoplasias de células mesenquimatosas. Tal como Ghisleni (2006) indica no seu estudo, existem características morfológicas visíveis durante o exame citológico que são idênticas em vários tipos de sarcomas, e que este tipo de tumores, salvo algumas exceções, é bastante heterogêneo na sua composição. Tal como no estudo de Ghisleni (2006), a análise citológica não provou ser fiável para a determinação da origem das células aquando da avaliação de uma neoplasia mesenquimatosa.

No diagnóstico de lesões não neoplásicas, o número de casos aceites no estudo era pequeno, apenas 6 casos. Tendo em conta estes seis casos, a citologia conseguiu classificar corretamente 3 (50%) lesões como não neoplásicas, sendo o diagnóstico confirmado histologicamente. Nos restantes 3 casos, e tendo em conta que em lesões neoplásicas com localizações cutâneas e subcutâneas pode existir uma componente celular inflamatória (Ghisleni et al., 2006), o diagnóstico feito foi incorreto. Nestes 3 casos, a análise histopatológica classificou-os como fibrossarcoma (n=1), tricoepitelioma (n=1) e tricoepitelioma poliquístico (n=1). Em comparação com outros estudos na área, e com um número muito superior de casos, Simeonov (2010) relata que 63,6% dos diagnósticos citológicos se encontravam em concordância com os diagnósticos histopatológicos, enquanto que, em 36,4% dos casos, a análise citológica resultou em diagnósticos falsos negativos. No estudo de Ghisleni (2006), 68,7% dos casos existia concordância entre as duas análises, enquanto que em 31,3% a análise citológica forneceu em resultado falso negativo. Embora o número de casos não neoplásicos neste estudo seja muito pequeno, e comparando com os dados apresentados, este estudo revela menores percentagens de negativos verdadeiros e maiores percentagens de falsos negativos.

Em Medicina Veterinária, são poucos os estudos dedicados a correlacionar as análises citológica e histopatológica em tumores cutâneos e subcutâneos. Simeonov (2010), obteve 88,7 % de concordância entre os resultados dos dois tipos de análises. No estudo de Ghisleni (2006), o valor de concordância é superior, representando 90,9 % dos casos. Estes dois estudos seguiram métodos idênticos aos utilizados na dissertação de mestrado acima apresentada, obtendo valores próximos, ainda que mais altos que os aqui descritos. Nesta dissertação de mestrado, no que toca à capacidade de diagnóstico de neoplasia, a citologia apresentou valores de sensibilidade de 95,92%, especificidade de 50,00%, valor preditivo positivo de 94,00% e valor preditivo negativo de 64,00%. No estudo de Ghisleni (2006), foram obtidos valores de sensibilidade de 89,3%, especificidade de 97,9%, valor preditivo positivo de 99,4% e valor preditivo negativo de 68,7%. Já no estudo de Simeonov (2010), os resultados obtidos para a sensibilidade são de 90,47%, especificidade de 97,22%, valor preditivo positivo de 98,44% e valor preditivo negativo de 63,63%. Comparando estes resultados, a sensibilidade, o valor preditivo positivo e o valor preditivo negativo estão em concordância com os estudos de Ghisleni (2006) e de Simeonov (2010). A maior discrepância é encontrada nos valores de especificidade. O valor encontrado nesta

dissertação de mestrado é muito inferior ao encontrado nos outros estudos, devendo-se este facto ao pequeno tamanho da população não neoplásica e ao elevado número de falsos positivos dentro desta população.

Chalita, Matera, Alves e Longatto Filho (2001) compararam a análise citológica e histopatológica de massas provenientes da pele e tecido subcutâneo, obtendo uma percentagem de 97% de precisão entre os resultados obtidos pelas duas análises. O método de colheita de amostras no estudo de Chalita et al (2001) foi a punção por agulha fina, não sendo feita aspiração aquando da punção da massa. Embora o procedimento seja diferente, os resultados demonstram-se compatíveis com os obtidos em outros estudos e nesta dissertação de mestrado. Embora outros estudos disponíveis não avaliem exclusivamente lesões cutâneas e subcutâneas, podem ser comparados desde que de forma cautelosa. Eich, Whitehair, Moroff e Heeb (2000), num estudo do qual faziam parte 100 massas das quais 35 provenientes da pele e de tecido subcutâneo, apresentaram uma correlação de 83%. Infelizmente neste estudo são apenas analisadas lesões neoplásicas e não é indicada pelos autores a correlação apenas para as lesões provenientes da pele e dos tecidos subcutâneos. No estudo de Griffiths, Lumsden e Valli (1984), foram analisados 147 tumores cutâneos e concluído que os diagnósticos citológicos e histopatológicos foram concordantes em 71,4% dos casos. Num outro estudo, Cohen, Bohling, Wright, Welles e Spano (2003) avaliaram um total de 269 citologias provenientes de várias espécies e de várias localizações. Foram avaliadas 65 citologias provenientes de tecido cutâneo e 50 de tecido subcutâneo, perfazendo um total de 115 citologias. No que toca à concordância entre a análise citológica e histopatológica, o valor alcançado neste estudo foi de 70,5%, sendo ligeiramente abaixo do alcançado nesta dissertação de mestrado. É importante referir ainda que no estudo de Cohen et al. (2003) não foi fornecida a informação de qual o método utilizado nas colheitas de material para citologia. Vos, van den Ingh e van Mil (1989), realizaram um estudo da qual faziam parte 322 citologias provenientes de canídeos, sendo que 196 se tratavam de lesões cutâneas, embora tenha de ser levado em conta o facto que 71 se localizavam no tecido mamário. A colheita de material era realizada pós cirurgicamente ou durante necropsia, realizando PAAF e raspagem. Os diagnósticos citológico e histopatológico foram concordantes em 83,9%, embora este valor seja calculado para o total de lesões, não sendo referida a percentagem para as lesões cutâneas e subcutâneas.

5. Conclusão

O estágio curricular realizado no Hospital Veterinário do Oeste permitiu pôr em prática os conhecimentos adquiridos ao longo dos 5 anos passados na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa e preparar a entrada no mercado de trabalho. O interesse pela área de laboratório desenvolveu-se durante o estágio curricular e o tema da dissertação de mestrado apresentada surgiu de forma natural, revelando-se um enorme desafio. A citologia trata-se de um

exame complementar que pode e deve estar disponível em todos os centros veterinários. O aparecimento de lesões no tecido cutâneo e subcutâneo dos animais de companhia é comum, sendo necessária a existência de métodos complementares com resultados rápidos e fidedignos, de forma a ser prestada assistência veterinária de forma correta. A citologia pode então resumir-se num exame complementar que requiere material pouco especializado, de baixo preço e quase sempre acessível a qualquer médico veterinário de pequenos animais. Não se trata apenas do valor monetário, a citologia em Medicina Veterinária toma, como descrito nesta dissertação de mestrado, um valor diagnóstico relevante, com percentagens de correlação com a histopatologia deveras elevadas e uma alta sensibilidade para o diagnóstico de lesões neoplásicas. Qualquer médico veterinário deve ter sempre presente a importância da correcta colheita de material, preparação da lâmina e da história clínica do animal, assim como a consciência das limitações da análise citológica e que se trata de um complemento da análise histopatológica e não de um substituto da mesma. Em suma, tendo em conta os resultados desta dissertação de mestrado, a análise citológica é uma técnica bastante útil no diagnóstico de neoplasias cutâneas e subcutâneas em cães, não sendo possível concluir o mesmo no que toca aos gatos, devido ao reduzido tamanho da população. A citologia consegue diagnosticar lesões neoplásicas, diferenciando lesões benignas e malignas de forma fidedigna. A obtenção de um diagnóstico definitivo através da análise citológica pode ser impossível, sendo por vezes possível diagnosticar neoplasia, assim como, identificar o tipo de células neoplásicas, sem no entanto especificar exactamente a origem das células presentes. Os diagnósticos genéricos de neoplasia mesenquimatosa, representam mais de metade do total de citologias com diagnóstico genérico. Esta conclusão está de acordo com a bibliografia disponível, confirmando que um diagnóstico definitivo para as neoplasias mesenquimatosas está muitas vezes além das possibilidades da análise citológica. Devido à pequena quantidade de amostras provenientes de lesões inflamatórias, não é possível concluir se a análise citológica se trata de um exame complementar fidedigno no diagnóstico deste tipo de lesões. Esta dissertação de mestrado procura consciencializar os médicos veterinários para as vantagens e desvantagens da análise citológica, abrir portas para novos estudos, aumentar as capacidades dos clínicos, melhorando assim a assistência dada aos pacientes.

Bibliografia

- Alleman, A. R., Bain, P. J. (2000). Diagnosing neoplasia: the cytologic criteria for malignancy. *Veterinary Medicine*, March 2000, p.204-222.
- Allen, S.W., Prasse, K.W. (1986). Cytologic diagnosis of neoplasia and perioperative implementation. *Comp.Cont.Educ.* 8(2):72-80.
- Bauer, N. (2014). Cytological Collection Techniques and Sample Preparation. In J. Dunn, *Manual of diagnostic cytology of the dog and cat.* (pp 1-16). West Sussex: Wiley.
- Bostock, D.E. (1986). Neoplasms of the skin and subcutaneous tissues in dogs and cats. *The British Veterinary Journal*, Jan-Feb; 142(1):1-19.
- Bronden, L. B., Eriksen, T., Kristensen, A. T., (2010). Mast cell tumors and other skin neoplasia in Danish dogs – data from the Danish Veterinary Cancer Registry. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2010, 52:6
- Chalita, M. C., Matera, J. M., Alves, M. T., Longatto Filho, A. (2001). Nonaspiration fine needle cytology and its histologic correlation in canine skin and soft tissue tumors. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 2001 Dec; 23(6):395-9.
- Cohen, M., Bohling, M. W., Wright, J. C., Welles, E. A., Spano, J. S. (2003). Evaluation of sensitivity and specificity of cytologic examination: 269 cases (1999-2000). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2003 Apr 1;222(7):964-7.
- Dunn, J. (2014). Cytology of cutaneous and subcutaneous lesions. In J. Dunn, *Manual of diagnostic cytology of the dog and cat.* (pp 57-74). West Sussex: Wiley.
- Eich, C. S., Whitehair, J. G., Moroff, S. D., Heeb, L. A. (2000). The accuracy of intraoperative cytopathological diagnosis compared with conventional histopathological diagnosis. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 2000 Jan-Feb; 36(1):16-8.
- Finnie, J. W., Bostock, D.E. (1979). Skin neoplasia in dogs. *Australian veterinary journal*, v.55, p.602-604.
- Fisher, D. J. (2014). Cutaneous and subcutaneous lesions. In A. C. Valenciano, R. L. Cowell, *Cowell and Tyler's diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*, (4th ed.). (pp. 80-108). St. Louis: Elsevier.

- Ghisleni, G., Roccabianca, P., Ceruti, R., Stefanello, D., Bertazzolo, W., Bonfati, U., Cianiatti, M. (2006). Correlation between fine-needle aspiration cytology and histopathology in the evaluation of cutaneous and subcutaneous masses from dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 2006;35:24-30.
- Griffiths, G.L., Lumsden, J.H., Valli V.E.O., (1984). Fine needle aspiration cytology and histologic correlation in canine tumors. *Veterinary Clinical Pathology*, vol. XIII, Nº1, 13-18.
- Hajdu, S. I., Melamed, M. R., (1984). Limitations of aspiration cytology in the diagnosis of primary neoplasms. *Acta Cytol.* 1984 May-Jun; 28(3):337-45.
- Hauck, M. L. (2013). Tumors of the skin and subcutaneous tissues. In S. J. Withrow, D. M. Vail, R. L. Page, *Withrow & MacEwen's small animal clinical oncology*, (5th ed.). (pp 319-331). St. Louis, Missouri, Elsevier.
- Kaldrymidou, H., Leontides, L., Koutinas, AF., Saridomichelakis, MN. (2002). Prevalence, distribution and factors associated with the presence and the potencial of malignancy of cutaneous neoplasms in 174 dogs admitted to a clinic in northern Greece. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 202, 49:87-91.
- Kocjan, G. (2006). Introduction and Historical Perspective. In G. Kocjan, *Fine Needle Aspiration Cytology: Diagnostic Principles and Dilemmas*. (pp 1-6). Germany, Springer.
- Lillesand, T. M., Kiefer, R.W. (Ed.). (1994). *Remote sensing and image interpretation*. (3rd ed). Crawfordsville: R.R. Donnelley.
- MacNeill, A.L. (2011). Cytology of canine and feline cutaneous and subcutaneous lesions and lymph nodes. *Top Companion Anim Med*, May;26(2):62-76.
- Magalhães, A. M., Ramadinha, R. R., Barros, C. S., Peixoto, P. V. (2001). Estudo comparativo entre citopatologia e histopatologia no diagnóstico de neoplasias caninas. *Pesq.Vet. Bras.* 21(1): 23-32, jan/mar.
- Marcos R., Santos, M. (2011). Técnicas de colheita e coloração de esfregaços. In M. C. Peleteiro, R. Marcos, M. Santos, J. Correia, H. Pissara, T. Carvalho, *Atlas de citologia veterinária*. (pp. 1-27). Lisboa: Lidel.
- Marcos, R., Santos, M., Pissara, H., Peleteiro, M. C. (2011). Pele, seus anexos e tecido subcutâneo. In M. C. Peleteiro, R. Marcos, M. Santos, J. Correia, H. Pissara, T. Carvalho, *Atlas de citologia veterinária*. (pp. 45-100). Lisboa: Lidel.

- Masserdotti, C. (2006). Architectural patterns in cytology: correlation with histology. *Veterinary Clinical Pathology*, 2006;35:388–396.
- Meinkoth, J. H., Cowell, R. L., Tyler, R. D. (2014). Cell types and criteria of malignancy. In A. C. Valenciano, R. L. Cowell, *Cowell and Tyler's diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*, (4th ed.). (pp. 20-46). St. Louis: Elsevier.
- Meinkoth, J. H., Cowell, R. L., Tyler, R. D., Morton, R. J. (2014). Sample collection and preparation. In A. C. Valenciano, R. L. Cowell, *Cowell and Tyler's diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*, (4th ed.). (pp. 1-19). St. Louis: Elsevier.
- Menard, M., Fontain, M., Morin, M. (1986). Fine needle aspiration biopsy of malignant tumors of dogs and cats: a report of 102 cases. *Can Vet J* 27:504-510
- Meyer, D. J., Connolly, S.L., Hock Gan Heng (2010). The acquisition and management of cytology specimens. In R. E. Raskin, D. J. Meyer, *Canine and feline cytology: A color atlas and interpretation guide*, (2nd ed.). (pp. 1-14). St. Louis: Saunders Elsevier.
- Morris J. & Dobson J. (2001). Diagnosis and staging. In J. Morris & J. Dobson, *Small Animal Oncology*, (pp. 15-17). Oxford: Blackwell Science Ltd.
- Peleteiro, M. C. (2011). Princípios gerais de interpretação em diagnóstico citológico. In M. C. Peleteiro, R. Marcos, M. Santos, J. Correia, H. Pissara, T. Carvalho, *Atlas de citologia veterinária*. (pp. 29-43). Lisboa: Lidel.
- Raskin, R. E. (2010). General categories of cytologic interpretation. In R. E. Raskin, D. J. Meyer, *Canine and feline cytology: A color atlas and interpretation guide*, (2nd ed.). (pp. 15-25). St. Louis: Saunders Elsevier.
- Raskin, R. E. (2010). Skin and subcutaneous tissues. In R. E. Raskin, D. J. Meyer, *Canine and feline cytology: A color atlas and interpretation guide*, (2nd ed.). (pp. 26-76). St. Louis: Saunders Elsevier.
- Raskin, R.E. (2013). Historical overview of evidence-based diagnostic cytology including bone marrow in Veterinary Medicine. Disponível em: https://www.google.pt/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCYQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.acvp.org%2Fmeeting%2F2013%2FappFiles%2F35_Raskin.docx&ei=OmN-VNN7i7FpwOyC-A0&usg=AFQjCNFvDFjvzAv2puEwjWadBCtwg9Vr0Q&sig2=Fqd0UEvtBqTjcc2w_QDBYA
- Simoenov, R. S. (2011). The accuracy of fine-needle aspiration cytology in the diagnosis of canine skin and subcutaneous masses. *Comp Clin Pathol*: DOI 10.1007/s00580-010-1075-5.

- Skeldon, N., Dewhurst, E. (2009). The perceived and actual diagnostic utility of veterinary cytological samples. *Journal of Small Animal Practice*, 50, 180-185
- Tennant, K. (2014). General principles of cytological interpretation. In J. Dunn, *Manual of diagnostic cytology of the dog and cat*. (pp 17-32). West Sussex: Willey.
- Tyler, R.D., Cowell, R. L., Baldwin, C. J., Morton, R.J. (1989). Introduction. In R. L. Cowell, R. D. Tyler, J. H. Meinkoth, *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*, (2nd ed.). (pp. 1-19). St. Louis: Mosby.
- Tyler, R.D., Cowell, R. L., Meinkoth J. H. (1989). Cutaneous and subcutaneous lesions: masses, cysts, ulcers and fistulous tracts. In R. L. Cowell, R. D. Tyler, J. H. Meinkoth, *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*, (2nd ed.). (pp. 20-51). St. Louis: Mosby Inc.
- Vos, J. H., van den Ingh, T. S. G. A. M., van Mil, F. N. (1989). Non-exfoliative cytology: the value of fine needle aspiration and scraping cytology. *The Veterinary Quarterly*, Vol. 11, N° 4, October 1989.